

**QUANTITATIVE ANALYSE
DER HYPERPLASIEENTWICKLUNG
AM MEERSCHWEINCHENOHR**

Michael Dippelhofer

1976



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Dermatologischen Klinik und Poliklinik
der Universität München

Direktor: Professor Dr. med. O. Braun-Falco

QUANTITATIVE ANALYSE DER HYPERPLASIEENTWICKLUNG
AM MEERSCHWEINCHENOHR

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der Zahnheilkunde
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Michael Dippelhofer

aus München

1976

mit Genehmigung der Fakultät Medizin
der Universität München

Berichterstatter: Prof.Dr.med. E. Christophers

Mitberichterstatter: Prof.Dr.med. O. Braun-Falco

Dekan: Prof.Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 12. Oktober 1976



Meinen lieben Eltern
in Dankbarkeit gewidmet

I N H A L T S Ü B E R S I C H T

I.	EINLEITUNG	4
II.	MATERIAL UND METHODEN	13
A	Material	13
B	Methoden	14
1.	Erzeugung einer Hyperplasie	14
2.	Isotopenmarkierung der Epidermiszellen	14
3.	Histologische Verarbeitung	15
a)	FITC-Färbung	15
b)	Autoradiographische Technik	16
4.	Meßmethoden	17
a)	Messung der Hornschicht- Zellagen	17
b)	Auszählung der markierten Zellen	18
c)	Histoplanimetrie	19
d)	Kontrollwerte	20
5.	Versuchsablauf	21

III. ERGEBNISSE	22
A Makroskopische Beobachtungen	22
B Histologische Gewebsveränderungen	23
C Quantitative Auswertung	33
1. Dicke der lebenden, nicht verhornten Epidermis	34
2. Dicke des Stratum granulosum	37
3. Dicke des Rete Malpighi	39
4. Dicke des Stratum corneum	42
5. Basalmembranlänge/Oberflächenlänge	46
6. Markierte Zellen/Oberflächenlänge	49
7. Synopsis der Einzelkurven	53
8. Korrelationen der Parameter	62
9. Schematische Darstellung der Epidermisveränderungen	63
IV. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE	67
A Gründe für die Verwendung des Parameters MKZ/OFL	79

B	Diskussion der Dynamik der Gewebsveränderungen	83
1.	Verhalten Markierungszahl und Dicke der lebenden Epidermis	83
2.	Vergleich Dicke Stratum granulosum und Stratum corneum	94
3.	Veränderungen der dermoepidermalen Verbundzone	103
V.	ZUSAMMENFASSUNG	109
VI.	LITERATURVERZEICHNIS	114

I. E I N L E I T U N G

Die Epidermis besitzt unter allen Geweben die weit-
aus größte Oberfläche. Sie ist "Defensivorgan" (24)
und bildet eine kohärente Membran als "Barriere"
zur Außenwelt, das Stratum corneum. Unter einem cm^2
Hautoberfläche der Epidermis des Meerschweinchen-
ohres liegen etwa 4,3 - 5,0 Mio. unverhornte Epi-
dermiszellen, die einem kontinuierlich verlaufenden
Regenerationsprozeß unterliegen.

Entsprechend der von MESSIER und LEBLOND (61) vor-
geschlagenen Klassifizierung sämtlicher Körperzel-
len nach der Regenerationsrate zählt die Epidermis
zu den klassischen Mausergeweben.

Die genannten Autoren teilen ein in:

1) statische Gewebe

die aus hochdifferenzierten Zellen bestehen
(z.B. Nerven- u. Muskelzellen).

Bei Stimulation reagieren sie mit Hypertrophie,
wahren jedoch ihre numerische Konstanz;

- 2) wachsende Gewebe (z.B. Drüsen),
die zwar ebenfalls einen konstanten Substanz-
austausch aufweisen, aber bei Stimulation mit
Zellteilungen zu reagieren vermögen;
- 3) Mausergewebe (z.B. Epidermis, Blutzellen),
die einem physiologischen Zellverlust durch
kontinuierliche Zellneubildung ausgleichend
entgegentreten.

Unter Normalbedingungen (steady state) besteht bei den Mausergeweben ein Gleichgewicht zwischen Zellverlust und Neubildung. Für die Epidermis bedeutet dieses ein Gleichbleiben der Dicke.

Da auch bei "statischen" und "wachsenden" Geweben ein gewisser Zellverlust mit der Alterung einhergeht, liegt der wesentliche Unterschied der drei Gewebsgruppen im Ausmaß der zellregenerativen Potenz (45). Im Vergleich zu anderen Mausergeweben (Haare, Blut, Intestinum) vollzieht sich der Vorgang des Zellersatzes bei der Epidermis relativ langsam. Der

Zeitraum, in dem die lebende Epidermis sich unter physiologischen Bedingungen erneuert, beträgt an der menschlichen Rumpfhaut (14, 37, 60, 80) wie am Meerschweinchenohr (14, 27, 32) 14 - 17 Tage. Jedoch vermag die Epidermis, z.B. im Gegensatz zum intestinalen Epithel, aufgrund ihrer großen zellregenerativen Potenz - also der Fähigkeit, ihre proliferative Aktivität zu steigern - auf äußere Reize wie Wundsetzung etc. mit massiver Akzeleration des Zellersatzes zu antworten (14, 18, 19, 37, 38, 49, 73). Die Erneuerungszeit kann so auf ein Minimum von 3 - 4 Tagen reduziert werden (14, 77).

Ein wichtiges Charakteristikum der Epidermis ist die strenge Trennung der gesamten Zellpopulation in 3 Subpopulationen mit unterschiedlicher Funktion, nämlich

- 1) die proliferierende Fraktion, die sogenannte Basalzellschicht (23, 37, 38, 49, 53, 66, 67, 77, 79, 80)

Autoradiographische Untersuchungen haben ergeben, daß sich jeweils ca. 5 % der Basalzellen einer ungereizten Meerschweinchenepidermis in

der DNS-Synthesephase befinden (73, 82). Die Erneuerungszeit (turnover) in diesem Kompartiment beträgt etwa 4 - 5 Tage (17, 82);

- 2) die peripher gelegene differenzierende Fraktion (Str. spinosum u. Str. granulosum), die sich in den verschiedenen Stadien der Keratinisation befindet und zunehmend Keratinvorläufer (Tonofilamente, Tonofibrillen) synthetisiert;
- 3) das Str. corneum als die "tote" Fraktion der Epidermis (ausdifferenzierte, keratinreiche Zellen nach Lyse des Zellkernes und Volumenabnahme durch Dehydratation). Seine Zellen (Keratingehalt 50 % (55)) besitzen im Gegensatz zur mehr kugelförmigen Basalzelle ($\emptyset$ ca. 12 μm) eine plattenartige Gestalt ($\emptyset$ 30 μm ; Dicke 0,5 μm) (17). Es besitzt die Schutzfunktion gegenüber physikalischen und chemischen Schädigungen durch die Außenwelt und stellt das Endprodukt epidermaler Syntheseleistungen dar. Die Bildung dieser widerstandsfähigen, weitgehend undurchlässigen

und doch flexiblen Hornschicht, die phylogenetisch die Verlagerung des Lebensraumes vom Wasser auf das Land ermöglichte (SPEARMAN (18)), kann als Hauptaufgabe der Epidermis betrachtet werden. Auch sie weist unter normalen Bedingungen eine konstante Schichtdicke auf (55), d.h. die Verhornung lebender Epidermiszellen steht im Gleichgewicht mit der Desquamation (Gewebshomeostase (10)), wobei die Zelle für ihre Durchwanderung dieses Kompartiments normalerweise etwa 14 Tage benötigt, um dann an der Oberfläche verlorenzugehen (32, 60, 71, 77, 80).

Durch Tierversuche mit den verschiedensten Laborieren wurde versucht, die in der normalen, vor allem aber der hyperplastischen Epidermis ablaufenden Vorgänge zu klären. Ganz besonders bietet sich hier das Meerschweinchen als Versuchsobjekt an, weil die Ohrepidermis dieses Tieres in Dicke, Zellgröße und Verlauf der dermoepidermalen Verbundzone weitgehend der menschlichen Epidermis des Rumpfes gleicht (17, 22).

Nach BULLOUGH (11) ist Hyperplasie, d.h. zahlenmäßige Vermehrung von Zellen, die natürliche Antwort auf jegliche Art epidermaler Schädigungen, sei sie nun chemisch, physikalisch oder auch durch lebende Erreger, Stoffwechselprodukte etc. ausgelöst. Diese Hyperplasie, gleichgültig, ob vorübergehend oder chronisch, ist Folge einer Erhöhung der Mitoserate, möglicherweise bedingt durch den Abfall der Chalone-Konzentration nach Membranschädigung (10, 11).

Bestimmte Hauterkrankungen (Neurodermatitis, chron. Ekzem, Psoriasis vulgaris) weisen beträchtliche Hyperplasieentwicklungen der Epidermis als konstantes pathologisch-anatomisches Merkmal auf. Auch bei Präkanzerosen (z.B. der senilen Keratose), die im Gegensatz zur reaktiven, d.h. benignen Hyperplasie, irreversibel sind, kennen wir dieses Erscheinungsbild.

Um den Mechanismus der epidermalen Veränderungen genauer zu erfassen, wurde schon in früheren experimentellen Arbeiten mit künstlich erzeugter

Hyperplasie gearbeitet (2, 9, 13, 19, 43, 50, 51, 58, 59, 82). Die Palette der Möglichkeiten zur Erzeugung einer experimentellen Hyperplasie reicht weit, von physikalischen bis zu chemischen Methoden, z.B. der sogenannten Teerakanthose, oder der von HEITE (46, 47) mittels gelber Vaseline induzierten Proliferationssteigerung.

Eine Steigerung der proliferativen Aktivität bei einer durch Kohlenwasserstoffe erzeugten Akanthose wurde erstmalig von GAUDIN (42) nachgewiesen. Eine Übersicht findet sich bei STEIGLEDER (76).

In der vorliegenden Arbeit boten sich ungesättigte Kohlenwasserstoffe der aliphatischen Reihe von C_{12} - C_{20} an (51), unter denen wir dem n-Hexadecan (HDC) $(CH_3 (CH_2)_{14} CH_3)$ (34) wegen seiner hochgradigen, vorwiegend die Epidermopoesis steigernden Wirkung den Vorzug gaben (70). HDC hat dabei den besonderen Vorzug, den Erneuerungsprozeß der Epidermis erheblich zu verkürzen, dabei jedoch den Verhornungsprozeß nur in sehr geringem Maße zu beeinflussen (17). Die durch die Behandlung excessiv verdickte Hornschicht (Orthohyperkeratose) ist als

die direkte Folge der hochgradigen Proliferationssteigerung zu verstehen (51). Im Gegensatz dazu wirkt beispielsweise Vitamin A-Säure (VAS) als Hyperplasiogen, das neben seiner mitogenen Aktivität auch eine tiefgreifende Änderung des Verhornungsprozesses (Parakeratose) auslöst (16, 27, 28, 68). Die ebenfalls eintretende starke Verzahnung der dermoepidermalen Verbundzone (17, 22) bestätigt das vorwiegend psoriasisähnliche Erscheinungsbild der HDC-Hyperplasie.

Die Entstehung einer derartigen "reaktiven" Epidermis-Hyperplasie ist vielfach studiert und untersucht worden, jedoch haben sich die meisten Autoren auf Fragen der Mitoseaktivität, des Thymidineinbaues sowie Dickenmessungen beschränkt (4, 35, 38, 41, 48, 58, 59, 67).

Wir haben unter Verwendung der experimentellen HDC-Hyperplasie das individuelle Größenwachstum der Epidermis anhand mehrerer Parameter zeitabhängig und quantitativ untersucht und in Beziehung zueinander gesetzt.

Besondere Betonung soll dabei in der vorliegenden Arbeit die Analyse der Wachstumssteigerung in den einzelnen funktionellen Epidermisabschnitten erfahren sowie ihr Verhalten zueinander.

Als Parameter dienen:

- Zahl der markierten Zellen nach
 ^3H -Thymidin-Injektion
- Dicke der lebenden Epidermis
- Dicke des Str. granulosum
- Dicke des Rete Malpighi
- Zahl der Zellagen des Str. corneum
- Basalmembranlänge.

II. MATERIAL UND METHODEN

A MATERIALIEN:

Als Versuchstiere dienten männliche Albino-Meerschweinchen vom Stamme Purbright (Gewicht ca. 200 bis 300 g), die mit Altromin^R) und Wasser ad libitum ernährt wurden. Die Stalltemperatur betrug konstant 22^o C; es wurde ein normaler Tag- und Nachtrhythmus eingehalten.

Zur Erzeugung einer benignen Hyperplasie verwendeten wir n-Hexadecan (HDC) - Summenformel $C_{16}H_{34}$ - der Firma Schuchardt, München.

Als radioaktiver "Tracer" für die autoradiographische Untersuchung diente Thymidin-Methyl-³H der Fa. Buchler, Braunschweig (spezifische Aktivität 6,7 Ci/mM), und für die histologische Darstellung des Str. corneum fand als spezielles Färbemittel Fluorescein-Isocyanat-Lösung der Fa. Serva, Heidelberg, Verwendung (Verdünnung: siehe Methoden).

B METHODEN:

1. Erzeugung einer Hyperplasie

Das Hyperplasiogen wurde einmal täglich um dieselbe Stunde (9.00 - 10.00 Uhr) auf die enthaarte Dorsalseite der Meerschweinchenohren aufgebracht.

Zur besseren und gleichmäßigeren Verteilung über die Oberfläche der Ohren wurde es als HDC-Diäthyläther-Gemisch im Verhältnis 1:2 mittels Tropfpipette in einer Menge von 0,1 ml täglich pro Ohr aufgeträufelt. Dabei konnte eine Verteilung der Flüssigkeit auch auf die Innenseite nicht völlig verhindert werden.

2. Markierung der Epidermiszellen

Zur Markierung teilungsbereiter Zellen wurde jeweils 10 μ Ci ^3H -TdR in physiologischer Kochsalzlösung als Quaddel subepidermal in einer Gesamtmenge von 0,1 ml pro Ohr injiziert (14, 17, 62, 69).

Um tageszeitliche Schwankungen der Mitoseaktivität zu eliminieren, erfolgte die Gewebsentnahme immer um dieselbe Zeit (zwischen 9.00 und 10.00 Uhr) nach Abtötung der Tiere durch Äther-Narkose-Überdosierung, nachdem dem ^3H -TdR exakt 40 Minuten zum Einbau in die Zelle während der S-Phase zur Verfügung gestanden hatten (26, 63, 80). Das entnommene Gewebe wurde sofort anschließend mit Kohlensäureschnee eingefroren und bei minus 20°C im Tiefkühlschrank bis zur histologischen Verarbeitung aufbewahrt.

3. Histologische Verarbeitung

a) Fluorescein-Isothiocyanat-Färbung:

Zur Verhinderung eines Hornschichtabris-
ses beim histologischen Schneideverfahren
wurde Nobecutan^R) unmittelbar vor der
Materialentnahme auf die Dorsalseite der
behandelten und markierten Ohren auf-
sprüht.

Für die histologische Untersuchung wurden Präparate mit 4 μ m dicken vertikalen Kryostatschnitten angefertigt und bei 5° C bis zur Auswertung gelagert. Zur Anfärbung wurden sie dann mit FITC (Fluorescein-Isothiocyanat) in physiologischer Kochsalzlösung in einer Verdünnung von 1:4000 drei Minuten lang überschichtet, anschließend zweimal in dest. Wasser je zwei Minuten gewässert und unter 1%iger Essigsäure - zur Quellung der Hornzellen - eingedeckt (Methode nach CHRISTOPHERS (21, 25, 29)). Die Betrachtung erfolgte unter dem Fluoreszenzmikroskop (Auflicht-UV) der Fa. Zeiss; Filterkombination: UG₁, 41, 40, KP 500.

Zur Herstellung von photographischen Aufnahmen diente Kodak Tri-x-Pan-Film (Tx 135-36/27 Din) und eine Zeiss-Ikon-Kamera, gekoppelt mit einer Belichtungsautomatik.

b) Autoradiographische Technik:

Von den entnommenen Gewebstückchen wurden 4 μ m dicke Gefrierschnitte mit dem

Kryostat angefertigt und auf mit Chroma-laun-Gelatine vorbehandelte Objektträger aufgebracht und an der Luft getrocknet. Nach dem Fixieren (5 Min. in Methanoleis-essig 9:1) wurden diese Präparate in der Dunkelkammer mit Kodak Dipping Film Emulsion Type NTB 2 bedeckt und bei -20°C im licht- und staubsicher verschlossenen Kasten 30 Tage exponiert (69). Nach anschließender Entwicklung (Kodak D 19 DV), Fixierung und gründlicher Wässerung wurden die Präparate mit Hämatoxylin-Eosin (H.E.) angefärbt und mittels angewärmter Kaisers Glycerin-Gelatine eingedeckt.

4. Meßmethoden

a) Messung der Hornschicht-Zellagen:

Pro Ohr wurde dazu an 20 Stellen (je Tier 2 Präparate bzw. Ohren) d.h. pro Wert an 40 Stellen die Dicke der Hornschicht als Zellagen unter dem Fluoreszenzmikroskop

ausgezählt und der Mittelwert gebildet. Gezählt wurden Zellen, die eine deutlich angefärbte Zellmembran mit fehlendem Zellkern aufwiesen (20).

b) Auszählung der markierten Zellen:

Die Auszählung ^3H -markierter Epidermiszellen unter dem Mikroskop wurde wiederholt durchgeführt und von einem zweiten Untersucher (Burkhardt) kontrolliert. Dabei galten Zellen mit 4 und mehr als 4 Silberkörnern über Kern bzw. background als markiert (31).

Die Auszählung erfolgte pro epidermaler Oberflächenlänge (OFL) nach Tuschemarkierung auf den Präparatdeckgläschen durch 2 Punkte. Die OFL wurde nach Projektion der abgegrenzten Epidermisstrecke mit dem mikroskopischen Projektor (Zeiss: Prado 500) bei 300-facher Vergrößerung mit einem Rollmesser entlang der Grenze von Str. granulosum und Str. corneum unter Benutzung der Zentimeterskala vermessen und anschließend in

mm umgerechnet. Auf diese Weise wurde von einem Gewebstückchen an mehreren Schnitten die OFL bestimmt und die dazugehörige Zahl der markierten Zellen ausgezählt.

$$\text{MKZ/OFL} = \frac{\text{markierte Zellen}}{\text{mm}}$$

Pro Gewebprobe wurden so durchschnittlich 15 mm epidermale OFL vermessen

- c) Flächenmessung zur Bestimmung von Epidermisdicke und Dicke des Str. granulosum nach dem Verfahren der Histoplanimetrie.

Dazu wurden pro Präparat an 3 Stellen die Epidermis und das Str. granulosum in 400-facher bzw. 1000-facher Vergrößerung projiziert und als Flächen auf Papier abgezeichnet und diese dann mit dem Planimeter (Fa. Ott, Kempten) vermessen. Dabei wurden nur senkrecht geschnittene, interfollikuläre Abschnitte vermessen, als seitliche Begrenzungslinien wurden jeweils die Senkrechten zur granu-

losum-Linie gewählt. Die Dicke wurde als Durchschnittsdicke durch Division von Fläche und OFL ermittelt und anschließend in μm umgerechnet.

Die Längenbestimmung der dermoepidermalen Grenzlinie (Basalmembran) erfolgte anhand der bei der Histoplanimetrie bereits verwendeten Epidermis-Zeichnungen mit einem Rollmesser unter Benutzung der Zentimeterskala (wie für die OFL unter b) beschrieben). Anschließend wurde der Quotient aus Basalmembranlänge (BML) und Oberflächenlänge (OFL) gebildet.

d) Kontrollwerte:

Dazu wurden 4 Kontrolltiere zur Objektivierung in unregelmäßigen Abständen während des Versuches entnommen, die mit Ausnahme der HDC-Behandlung den gleichen Versuchsbedingungen unterworfen waren wie die übrigen Versuchstiere.

5. Versuchsablauf:

Während eines 14-tägigen Zeitraumes wurde die Epidermis der Meerschweinchenohren auf der dorsalen Seite 1 x täglich mit derselben Menge des Hyperplasiogens HDC behandelt.

24 Stunden nach Behandlungsbeginn wurde mit der Untersuchung begonnen, wobei bis zum 5. Tag täglich, ab 5. Tag im 2-Tages-Abstand je 1 Tier entnommen wurde. Die von der Epidermis beider Ohren gewonnenen Gewebeproben wurden histologisch untersucht. Versuchsende war der 14. Tag, an dem die letzte HDC-Behandlung erfolgte. Die applizierte Gesamtmenge betrug pro Ohr in diesem Zeitraum 0,36 g HDC.

III. E R G E B N I S S E

A MAKROSKOPISCHE BEOBACHTUNGEN

Nach täglicher Applikation des Hyperplasio-
gens HDC auf die enthaarte Dorsalseite der
Ohrepidermis des Meerschweinchens zeigte
sich schon zwischen 1. und 3. Behandlungs-
tag eine starke Rötung, die von einer teil-
weise beginnenden filmartigen, weißlichen
Schuppung begleitet wurde. Die eben fühlba-
re Verdickung der Ohrhaut ist zu diesem
Zeitpunkt offenbar auf ein entzündliches
Ödem zurückzuführen.

Zwischen 4. und 7. Tag war eine deutliche
Konsistenzzunahme gegenüber der Norm fühl-
bar festzustellen, Rückgang der entzünd-
lichen Rötung und unterschiedlich starke,
aber generelle Schuppung von lamellärem
Charakter.

Zwischen 8. und 14. Tag schließlich waren
die Ohren um ca. 2 mm verdickt, aufgeworfen

und wiesen eine feine Schuppung auf, die manchmal von blutigen Rhagaden und starker entzündlicher Rötung (Aufkratzen) unterbrochen wurde.

B HISTOLOGISCHES BILD

Die lebende, interfollikuläre Epidermis des Ohres, d.h. ohne Str. corneum, ist 5 bis 7 Zellagen dick und zeigt einen mäßig geraden oder leicht gewellten Verlauf der dermoepidermalen Verbundzone (Abb. 1, 2).

Die Struktur der Epidermis bei den Tieren, die nicht der HDC-Behandlung ausgesetzt waren und die deshalb als durchschnittliche Normalwerte gelten dürfen, zeigt:

- Str. corneum:

9 Zellagen; abgeplattete, eng, fast reißverschlußartig miteinander verhaftete Zellen;

Prinzip einer "geordneten" Kolumnärstruktur (20);

- Str. granulosum:

1 - 2 Zellagen; rautenförmige, Keratohyalin-granula enthaltende Zellen;

- Str. spinosum:

3 - 5 Zellagen; polygonale Zellen mit runden Kernen;

- Str. basale:

1 Zellage zylindrischer Zellen, Ort der Zellteilung (wenige markierte Zellen).

Unter der täglich erfolgten Applikation von HDC entwickelte sich innerhalb weniger Tage eine zunehmende epidermale Hyperplasie (Zellvermehrung) (Abb. 3), die im folgenden kurz dargestellt werden soll.

Im Str. corneum tritt eine deutliche Hyperkeratose in den Vordergrund, zumeist ortho-, vereinzelt auch parakeratotisch (Abb. 5, 6, 8, 9). An manchen Stellen, besonders über den Ostien der Haarfollikel, sind dicke hyperke-

ratotische Massen, "Hornpfröpfe", zu sehen (Abb. 5, 7, 10). Dabei sind die oberen Zellagen flach, zusammengedrängt, miteinander verbacken und der Säureschwellung (FITC-Verfahren, siehe Material und Methoden) nicht mehr zugänglich.

Mit Einsetzen der Hyperplasie weicht die geordnete, reißverschlußartige Kolumnärstruktur einer zunehmenden "Unordnung" im Aufbau - die Zellen sind unterschiedlich groß, verschiedenartig geformt und nicht mehr so flach, wodurch offenbar das normalerweise dichte Aneinanderschmiegen der Zellen verlorengeht (Abb. 8).

Im Str. granulosum finden wir gegenüber der normalerweise einschichtigen Zellage eine deutliche Erhöhung der Zellzahl, die sich auf 3 - 4 Zellagen verstärkt (Abb. 9, 10). Besonders über den Retezapfen liegen oft vergrößerte, granulierte Zellen mehrschichtig in auffälliger Dreiecksanordnung (Abb. 6, 10).

Das Str. spinosum ist verbreitert; zusätzlich war besonders in dieser Zellschicht eine Volumenvergrößerung der Zellen (Hyper-trophie) zu verzeichnen.

Das Str. basale weist eine erheblich erhöhte Zahl markierter Zellen auf, was auf erhöhte proliferative Aktivität schließen läßt (Abb. 4).

Im Laufe von 3 Tagen entsteht eine Papillomatose durch Verlängerung der Papillen der Dermis. Aufgrund der epidermalen Volumenzunahme (Hyperplasie) nimmt die dermoepidermale Verbundzone einen stärker welligen Verlauf (Abb. 4). Es bietet sich daher nach 3 bis 5 Behandlungstagen zunehmend das Bild einer durch tiefreichende Zapfen in der Dermis verankerten Epidermis (Abb. 3, 4, 10).

Die in den histologischen Schnitten angetroffenen Adnexstrukturen (Haarfollikel, Talgdrüsen) zeigen typische Strukturmerkmale und in den oberen Bereichen der Follikeltrichter

eine stärkere Epithelhyperplasie.

In der Dermis zeigt sich vom 3. Behandlungstag an ein entzündliches Infiltrat, vorwiegend aus Lymphozyten, Histiozyten und Makrophagen bestehend, das in unterschiedlicher Ausprägung bis Behandlungsende nachweisbar ist. Während zum Behandlungsbeginn die entzündliche Reaktion stärker ist, schwächt sich das histologische Bild etwa ab dem 7. Tag zunehmend ab.

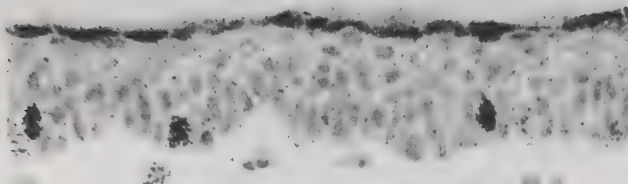


Abb. 1 Unbehandelte Meerschweinchen-Epidermis von der Dorsal-
seite des Ohres. Die ^3H -TdR-Markierung erfolgte 40 Minuten vor
der Gewebeentnahme.

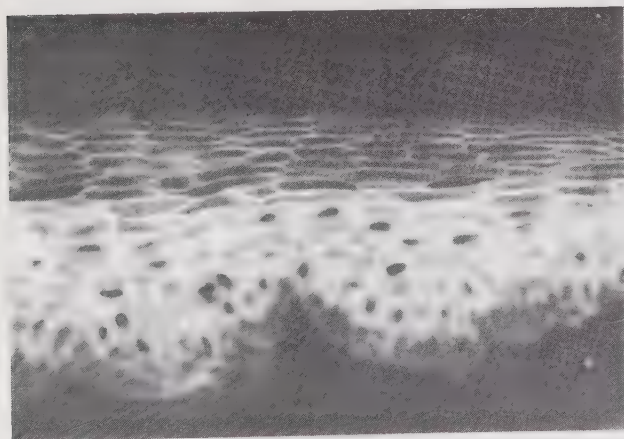


Abb. 2 Unbehandelte Meerschweinchen-Epidermis. Die Hornschicht-
struktur wurde durch FITC-Färbung sichtbar gemacht.

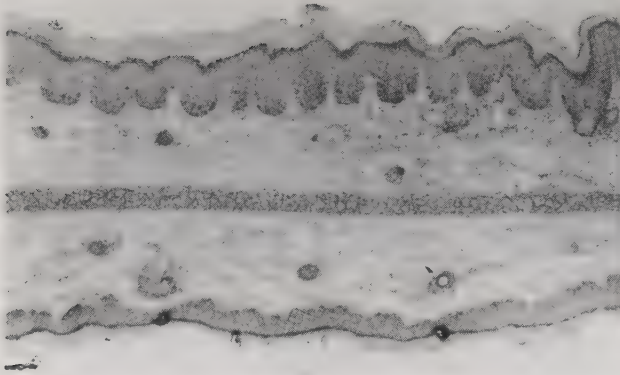


Abb. 3 Histologisches Übersichtsbild: Querschnitt von der Ohrmuschel des Meerschweinchens.
Dorsalseite (oben): Hyperplastische Epidermis nach 14-tägiger HDC-Behandlung.
Zum Vergleich die praktisch unbehandelte ventrale Ohrseite (unten).

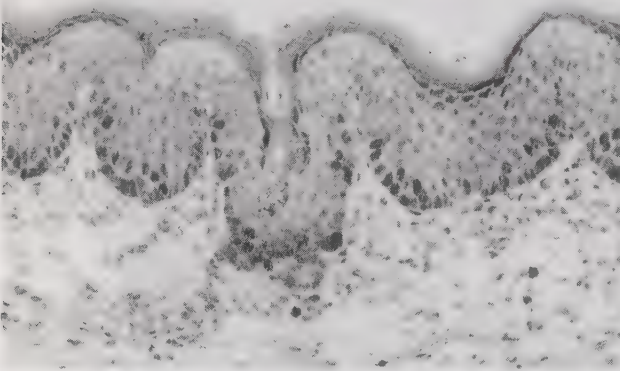


Abb. 4 Autoradiographisches Präparat einer beginnenden Hyperplasie der Meerschweinchen-Epidermis unter HDC-Einwirkung. Am 4. Tag sind noch keine gravierenden Veränderungen der Epidermisdicke festzustellen, deutlich jedoch die beginnende Papillomatose. Auffällig ist weiterhin die hohe Zahl basal gelegener markierter Zellen. Die Gewebsentnahme erfolgte 40 Min. nach der ^3H -TdR-Markierung.

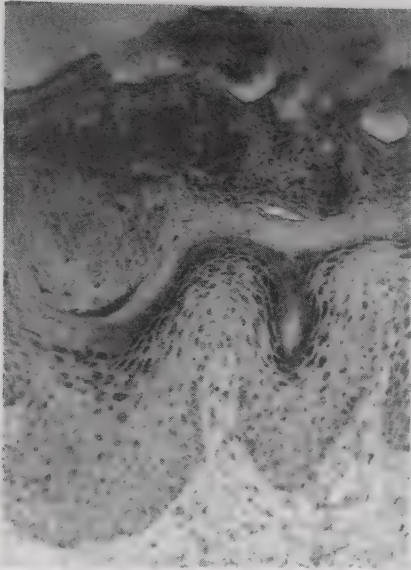


Abb. 5 Hyperplasie der Meerschweinchen-Epidermis nach 14-tägiger Behandlung. Pfropfartige, hyperkeratotische Zellmassen imponieren. In diesem Falle bietet sich das bei der HDC-Behandlung äußerst seltene Bild einer Parakeratose, der jedoch wieder eine typische Orthokeratose nachfolgt.

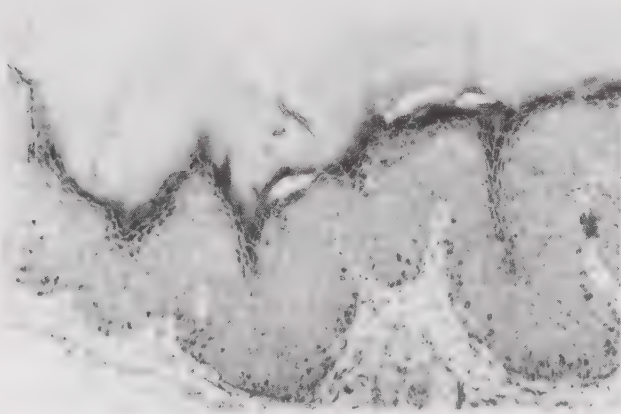


Abb. 6 Meerschweinchen-Epidermis nach 10-tägiger HDC-Behandlung. Die lebende Epidermis ist maximal verdickt. Interessant ist die dreieck- bis trichterförmige Anordnung der Zellen des Str. granulosum über den Retezapfen und die typische Ortho-Hyperkeratose im Str. corneum.

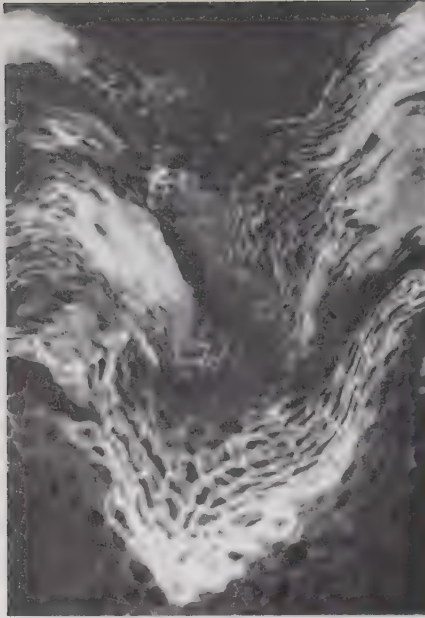


Abb. 7 Trichterförmig aufgeworfene hyperkeratotische Massen, Zeichen einer gestörten Abschilferung, wie sie häufig über den dermalen Papillen gefunden wurde. (FITC-Darstellung)

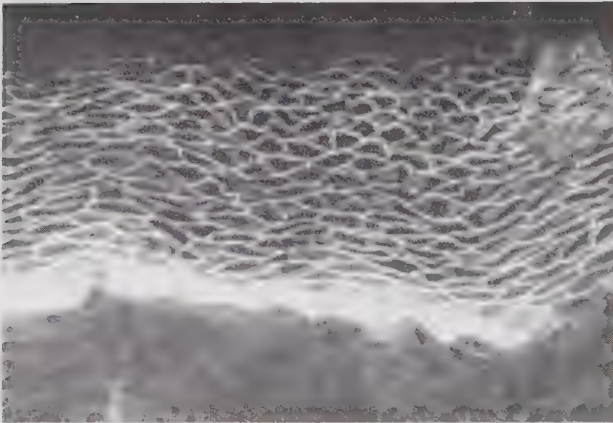


Abb. 8 Hyperkeratose der Meerschweinchen-Epidermis gegen Ende der HDC-Behandlung (12. Tag) - typische Orthokeratose. In der FITC-Darstellung wird die von der Norm abweichende Morphologie der Hornzellen sichtbar.

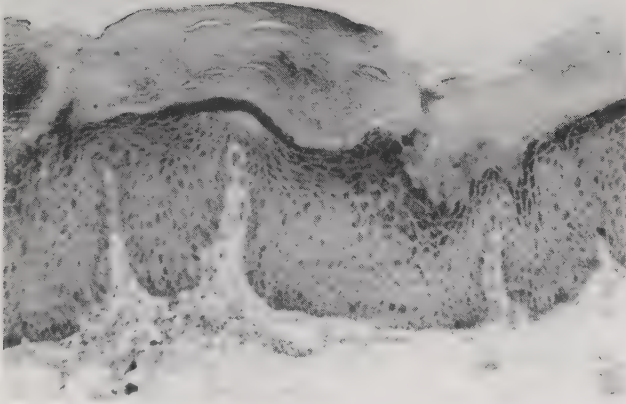


Abb. 9 Autoradiographisches Präparat der Meerschweinchen-Epidermis nach 14-tägiger HDC-Behandlung. Auffallend ist hier neben der typischen Ortho-Hyperkeratose besonders die stark verdickte Granulosumschicht und die zu diesem Zeitpunkt bereits wieder reduzierte Anzahl markierter Zellen. Die Gewebsementnahme erfolgte 40 Min. nach der ^3H -TdR-Markierung.

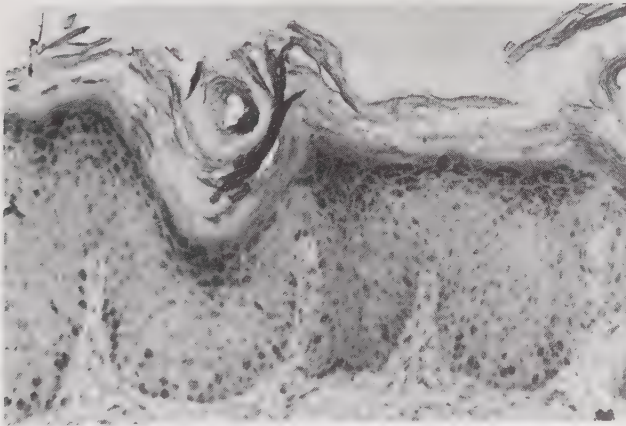


Abb. 10 Autoradiographisches Präparat der Meerschweinchen-Epidermis mit deutlich ausgeprägter Papillomatose nach 10-tägiger Behandlung mit HDC. Auffallend sind die tief in die Epidermis reichenden dermalen Papillen. Die markierten Zellen sind vorwiegend auf die Basalschicht beschränkt. Die Hornschicht, hier ohne Nobecutan^R - Schutzfilm, wurde beim Schneideverfahren teilweise zerstört. Gewebsementnahme: 40 Min. nach ^3H -TdR-Markierung.

C QUANTITATIVE AUSWERTUNG

Diese Untersuchung soll anhand verschiedener epidermaler Parameter (Schichtdicken, Basalmembranlänge, Zahl markierter Zellen) eine quantitative Aussage über Veränderungen der Epidermis während einer 14-tägigen HDC-Behandlung ermöglichen und durch Vergleich der erhaltenen Meßgrößen mögliche Korrelationen aufzeigen. Alle Dickenmessungen mit Ausnahme des Str. corneum wurden nach dem Verfahren der Projektionshistoplanimetrie (s. Material und Methoden) durchgeführt. Die Vorteile dieser Auswertung liegen nach WEIRICH (81) darin, daß die Epidermis in ihrer Gesamtheit erfaßt wird, wobei gegenüber der Messung mit einem Objektmikrometer geringere Meßfehler und bessere Reproduzierbarkeit von Bedeutung sind. Aufgrund der verschiedenen histologischen Anfärbbarkeit der einzelnen Epidermisschichten ist ferner eine Detailplanimetrie möglich (z.B. des Str. granulosum), wodurch die Verteilung der Proliferationsdynamik bestimmt werden kann.

1. Dicke der lebenden, d.h. unverhornten Epidermis:

Die Ergebnisse der Epidermisflächenvermessung der HDC behandelten, interfollikulären Meerschweinchenhaut sind in Abb. 11 für die lebende Epidermis in Abhängigkeit von der Behandlungsdauer dargestellt.

Nach einer kurzen Verzögerung zwischen 1. und 2. Tag der Behandlung steigt der Kurvenverlauf sprunghaft an. Das steilste Intervall liegt zwischen 3. und 5. Tag. Hier wird eine Dickenzunahme von $94,2 \mu\text{m}$ gemessen, nämlich von $83,7$ auf $177,9 \mu\text{m}$. Das bedeutet ein tägliches Wachstum von $31,4 \mu\text{m}$. Wenn man den Kontrolltiermittelwert für die Dicke zugrunde legt, bedeutet das für das Maximum der Kurve am 7. Tag (mit dem Wert $194,7$) eine 3,3-fache Verdickung der Epidermis (Abb. 11).

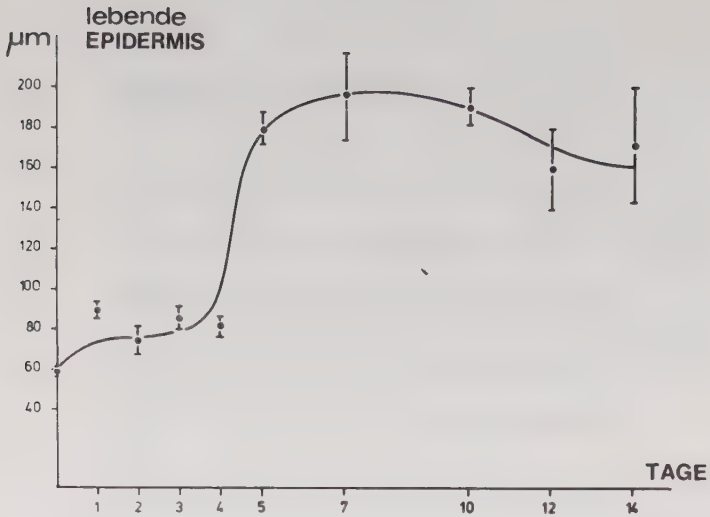


Abb. 11

Die Graphik zeigt die Dicke der lebenden Epidermis in (μm) in Abhängigkeit von der Zeit (in Tagen) während einer 14-tägigen Behandlung mit HDC.

Es ist der Mittelwert mit Standard Irrtum ($\pm S_x$) angegeben.

Tabelle:

Lebende Epidermis

Tag	Dicke (μm)	$\pm S_x$
Ko-Wert	58,1	2,2
1	88,2	4,2
2	73,2	7,4
3	83,7	6,2
4	79,9	4,6
5	177,9	8,4
7	194,7	21,1
10	188,6	9,4
12	158,2	20,6
14	170,3	28,7

Trotz fortgesetzter HDC-Behandlung ist am 7. Tag ein Wendepunkt im Dickenwachstum festzustellen, d.h. die Steigung der Kurve nimmt vom 5. Tag an wieder ab. Zwischen 7. und 8. Tag sistiert der Dickenzuwachs - die Kurve verläuft hier parallel zur x-Achse.

Im weiteren Versuchsablauf, etwa ab 8. Tag, fällt sie schließlich wieder ab, um sich zwischen 12. und 14. Tag auf den submaximalen Wert 170,3 (14. Tag) einzupendeln. Zwischen 7. und 14. Tag nimmt also der Epidermisdickenüberschuß um $24,4 \mu\text{m}$ ab, das bedeutet für diesen Zeitraum eine tägliche Abnahme um etwa $3,5 \mu\text{m}$. Bei Behandlungsabbruch (14. Tag) ergibt sich eine Verdickung um das 2,9-fache der Norm. Von diesem Zeitpunkt an scheint der zur x-Achse parallele Verlauf der Kurve auf ein "steady state"-Verhalten hinzuweisen.

2. Dicke des Str. granulosum:

Wie aus Abb. 12 hervorgeht, setzt nach einer Verzögerung am 2. Behandlungstag ein steiler Anstieg der Kurve ein, dessen Anstiegsmaximum zwischen 2. und 5. Tag etwa zwischen 10 und $20\text{ }\mu\text{m}$ liegt. Das entspricht einer täglichen Dickenzunahme des Str. granulosum von $3,3\text{ }\mu\text{m}$. Die Dickenzunahme beträgt zwischen 5. und 7. Tag noch $2,8\text{ }\mu\text{m}$, zwischen 7. und 14. Tag jedoch nur noch $3\text{ }\mu\text{m}$. Das entspricht einem täglichen Zuwachs von etwa $0,42\text{ }\mu\text{m}$ für das zuletzt erwähnte Intervall. Zwischen 12. und 14. Tag hat sich ein konstanter Wert ($26,1\text{ }\mu\text{m}$) eingestellt (Parallelität zur x-Achse), der zugleich das Maximum der Dickenzunahme darstellt. Das bedeutet, es war gegenüber der Norm von $8,58\text{ }\mu\text{m}$ eine dreifache Verdickung des Str. granulosum festzustellen.

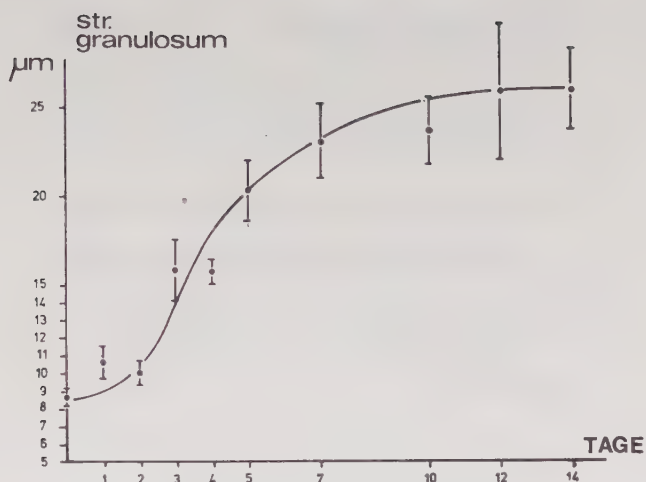


Abb. 12

Die Graphik zeigt die Dicke des Str. granulosum (in μm) in Abhängigkeit von der Zeit (in Tagen) während einer 14-tägigen Behandlung mit HDC.

Es ist der Mittelwert mit Standard Irrtum (${}^{+}S_{\bar{x}}$) angegeben.

Tabelle:

Str. granulosum

Tag	Dicke (μm)	${}^{+}S_{\bar{x}}$
Ko-Wert	8,58	0,5
1	10,6	0,95
2	9,9	0,7
3	15,8	1,7
4	15,7	0,7
5	20,3	1,7
7	23,1	2,1
10	23,7	1,9
12	25,9	3,9
14	26,1	2,3

3. Dicke des Rete Malpighi:

(Str. basale und spinosum, d.h. lebende Epidermis ohne Str. granulosum)

Nach Abzug der Granulosumdickenwerte von der Kurve der lebenden Epidermis ergibt sich ein Kurvenverlauf (Abb. 13), der die Dickenänderungen des Rete Malpighi beschreibt.

Nach einer kurzen Verzögerung von 3 Tagen steigt der ermittelte Kurvenverlauf sprunghaft steil an, mit einer größten täglichen Dickenzunahme von $45\text{ }\mu\text{m}$ am 4. Tag, bis am 7. Tag in überschießender Reaktion mit dem Wert von $175\text{ }\mu\text{m}$ das Maximum erreicht wird, was bei einem zugrunde liegenden Kontrollwert von $49\text{ }\mu\text{m}$ einer 3,6-fachen Verdickung entspricht. Das bedeutet, es kommen bis zum 7. Tag der HDC-Applikationen mehr Zellen über den proliferativen "Zellpool" in die Epidermis hinein, als über Str. granulosum bzw. Str. corneum abfließen können.

Ab dem 7. Tag jedoch fließen vermehrt Zellen in das Str. granulosum ab, und nach dem Überschreiten dieses Wendepunktes stellt sich der "interkompartimentielle" Zellfluß bei Abbruch der Behandlung, etwa am 14. Tag, auf einen konstanten Wert von $144 \mu\text{m}$ ein. Dieser Wert entspricht immerhin wiederum einer 2,9-fachen Verdickung gegenüber der Norm, was gut mit der bei der lebenden Epidermis gemessenen Verdickung übereinstimmt. Von dem Zeitpunkt an findet dann keine Dickenzunahme mehr statt; mit anderen Worten, die Behandlung der Haut mit HDC hat zu einem "steady-state" zwischen Zellnachschub und Zellverlust geführt.

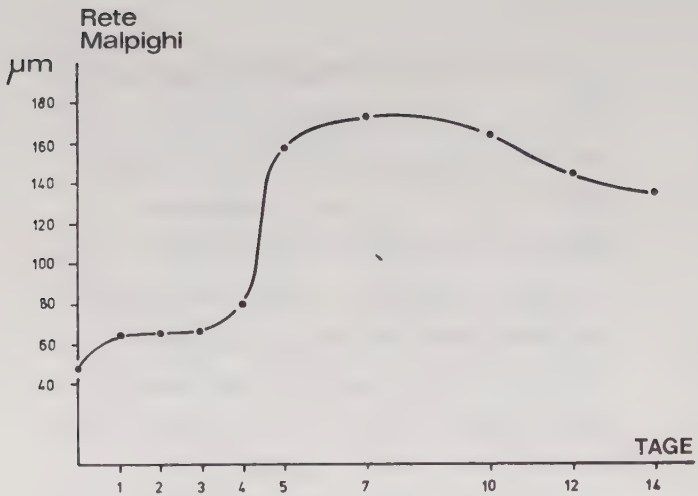


Abb. 13

Die Graphik zeigt die Dicke des Rete Malpighi (in μm) in Abhängigkeit von der Zeit (in Tagen) während einer 14-tägigen Behandlung mit HDC.

Es ist die Differenz der Kurven von lebender Epidermis und Str. granulosum angegeben. Der Standard Irrtum entfällt.

Tabelle:

Rete Malpighi

Tag	Dicke (μm)
Ko-Wert	49,5
1	77,6
2	63,3
3	67,9
4	64,2
5	157,6
7	171,6
10	164,9
12	132,3
14	144,2

4. Dicke des Str. corneum:

Durch eine spezielle Färbetechnik, nämlich die bei unserer Untersuchung verwandte Färbung mit FITC nach CHRISTOPHERS (21) (siehe Material und Methoden), wurde es möglich, genaueren Einblick in die Struktur des Str. corneum, dieser "relativ impermeablen, kohärenten Membran" (15), zu gewinnen.

Aufgrund ihrer brillanten Fluoreszenz werden die Zellgrenzen jeder einzelnen Hornzelle deutlich sichtbar, so daß sich unter Verwendung einer milden Säureschwelung der corneale Zellverband in seiner Gesamtheit darstellen läßt (20, 21, 25, 29). Dabei färben sich im Str. corneum im Gegensatz zur lebenden Epidermis ausschließlich die Zellmembranen. Das Zytoplasma dagegen bleibt fluoreszenzoptisch negativ.

Für unsere Messung wurde hierbei durch Zählung der Zellagen, im Gegensatz zu dem

Verfahren der Histoplanimetrie, die Schichtdicke als Funktion ihrer Zelllagen direkt erfaßt. Sie ist daher von evtl. Zellvolumenschwankungen, z. B. durch die künstlich herbeigeführte Säureschwellung, unabhängig. Wie wir jedoch durch vergleichende (hier nicht wiedergegebene) Messungen feststellen konnten, ergeben sich im Vergleich zur histoplanimetrischen Dickenmessung praktisch keine signifikanten Unterschiede, so daß diesem Verfahren die gleiche Aussagekraft zukommt.

Wir finden vom 1. Tag an einen sofortigen Anstieg ohne Verzögerung mit der konstanten Steigung von 0,6. Das entspricht also etwa einem realen Zuwachs von $1/2$ Zellage pro Tag. Diese konstante Zuwachsrate bleibt über den gesamten Zeitraum der Untersuchung erhalten. Auch am 14. Tag noch besteht offenbar für das Str. corneum keinerlei Tendenz, vom bisherigen linearen Kurvenverhalten abzuweichen. Ein weiteres Ansteigen der

Zahl der Zellagen auch nach Behandlungsabbruch (14. Tag) erscheint daher wahrscheinlich.

Insgesamt registrierten wir für den Behandlungszeitraum eine absolute Zunahme um 8,7 Zellagen, nämlich von 8,5 auf 17,2. Das entspricht einer Verdoppelung der Zahl der Zellagen des Str. corneum, die klinisch als Hyperkeratose erkennbar war.

Für das Verhalten des Str. corneum in der Zeit der Behandlung erbrachte die Verteilung der Meßpunkte praktisch eine lineare Beziehung, die in der Ausgleichsgeraden $y = 8,5 + 0,6 x$ (s. Abb. 14) zum Ausdruck kommt.

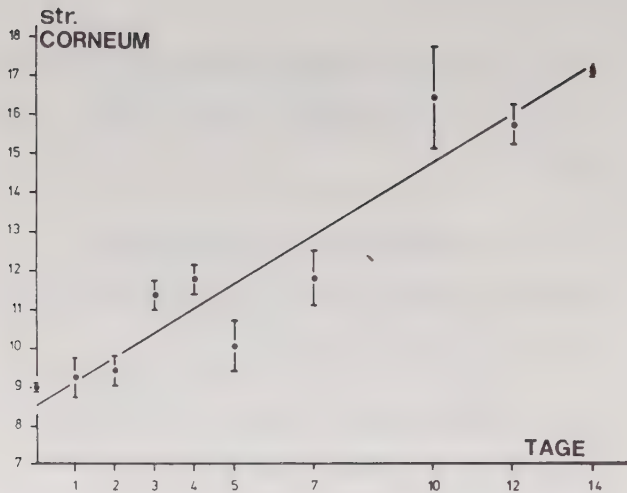


Abb. 14

Die Graphik zeigt die Anzahl der Zellagen im Str. corneum in Abhängigkeit von der Zeit (in Tagen) während einer 14-tägigen Behandlung mit HDC. Die Gerade $y = 8,5 + 0,6x$ wurde nach der Methode der kleinsten Quadrate aus den Meßpunkten errechnet.

Es ist der Mittelwert mit Standard Irrtum ($\pm S_x$) angegeben.

Tabelle:

Str. corneum

Tag	Zellagen	$\pm S_x$
Ko-Wert	8,96	0,1
1	9,26	0,5
2	9,36	0,4
3	11,31	0,4
4	11,69	0,4
5	10,0	0,65
7	11,71	0,7
10	16,35	1,3
12	15,65	0,5
14	16,97	0,1

5. Basalmembranlänge (BML):

Im Verlauf der HDC-Behandlung beobachteten wir an der hyperplastischen Epidermis eine charakteristische Veränderung der dermoepidermalen Verbundzone, wie sie sich sowohl generell nach experimenteller Stimulation der Epidermopoese, als auch im Rahmen verschiedener Hauterkrankungen (Psoriasis, Neurodermitis) vollzieht. Diese im Abschnitt "Histologie" bereits erwähnte Veränderung kann mit dem Parameter BML quantitativ erfaßt werden (s. Material und Methoden).

Dabei ergibt sich für den Kontrollwert ein Quotient BML/OFL von 1,09, der in guter Übereinstimmung mit der Literatur (17, 69) steht (Abb. 15). Bei der Epidermis des unbehandelten Meerschweinchenohres ist BML also um etwa 10 % größer als OFL.

Am 1. Behandlungstag ist noch keine Veränderung an der Basalmembran festzustellen.

len. Erst der am 2. Tag gemessene Wert von 1,17 zeigt eine 7,3 %ige Zunahme der BML im Vergleich zum Kontrollwert an. Bis zum 4. Tag ist nur ein relativ flacher Anstieg zu verzeichnen (Zuwachs: 3,2 % pro Tag), d.h. die BML hat sich trotz der in diesem Zeitraum hochgradig gesteigerten Proliferationsrate (siehe Abb. 6) nur langsam vergrößert, nämlich um 14,6 % (Wert: 1,25). Ab 4. Tag wird der Verlauf etwas steiler, die tägliche Zunahme beträgt ca. 10 %. Die Kurve erreicht am 7. Tag den Wert 1,57 (BML/OFL), das bedeutet eine Zunahme um 44 % gegenüber der Norm. Ab 7. Tag vermindert sich der Anstieg der Kurve wieder, es zeigt sich jedoch bezüglich der Zuwachsrates für die BML keine Tendenz zur Sistierung. Vielmehr ist bis zum 14. Tag eine mehr konstante, mäßige Steigung von 2,5 bis 3 % pro Tag zu verzeichnen, die offenbar auch darüber hinaus eine weitere Zunahme der BML erwarten läßt. Bei Behandlungsende zeigt der Wert 1,75 eine 60 %ige Verlängerung der Basalmembran gegenüber der Norm an.

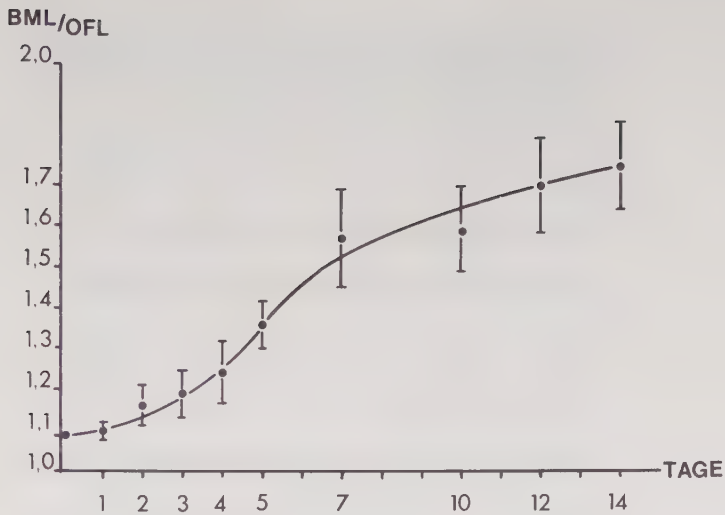


Abb. 15

Die Graphik zeigt den Quotient aus Basalmembranlänge/Oberflächenlänge (BML/OFL) in Abhängigkeit von der Zeit (in Tagen) während einer 14-tägigen Behandlung mit HDC.

Es ist der Mittelwert mit Standard Irrtum ($\pm S_x$) angegeben.

Tabelle: BML/OFL

Tag	Länge	$\pm S_x$
Ko-Wert	1,09	0,02
1	1,10	0,02
2	1,17	0,05
3	1,20	0,06
4	1,25	0,08
5	1,37	0,06
7	1,57	0,12
10	1,60	0,11
12	1,70	0,12
14	1,75	0,11

6. Anzahl markierter Zellen pro mm epider-
maler Oberflächenlänge (MKZ/OFL):

Bei der Verdoppelung der nukleären DNS, die der mitotischen Zellteilung vorausgeht, wird der Stoffwechselvorläufer - in unseren Versuchen das Nukleosid Thymidin mit einer Markierung durch das Isotop Tritium (Halbwertszeit 12,26 Jahre) - während der S-Phase des Zellzyklus in den Zellkern eingebaut (80). Die markierende Beta-Strahlung wird durch Überschichtung des histologischen Schnittes mit einer Photoemulsion sichtbar gemacht, und es wird so möglich, die Zahl der markierten Zellen zu bestimmen (74).

Diese Methode erlaubt eine Kennzeichnung proliferierender Zellen, da bekanntlich die DNS-Synthese ausschließlich in der proliferativen Zone, dem Basalzellager (Abb. 4) stattfindet. Die Trennung in Funktionszonen bleibt hierbei gewahrt (14, 17, 23, 27, 28, 35, 36, 37, 38, 46, 49, 53, 66, 67, 72, 73, 80).

Die in Abb. 16 dargestellte Kurve der MKZ/OFL als dem Parameter der Epidermopoesis ist durch einen besonders steilen, nahezu linearen Anstieg zwischen 1. und 4. Tag gekennzeichnet, der praktisch ohne Verzögerung bei Behandlungsbeginn einsetzt. Das bedeutet sofortige hochgradige Steigerung der Epidermopoesis (17, 35, 54).

Im weiteren Verlauf der Kurve der MKZ/OFL wird am 5. Tag schließlich mit dem Maximum von 138, das wohl als überschießende Reaktion aufzufassen ist, der Kulminationspunkt erreicht. Dieser Wert ist gegenüber dem bei den Kontrolltieren gemessenen (18,45 MKZ/OFL) um nahezu das 7,5-fache vergrößert, d.h. es befinden sich zu diesem Zeitpunkt der Hyperplasie etwa 7,5 mal so viele Zellen in der Synthesephase als unter Normalbedingungen.

Ab 5. Tag finden wir wieder ein leichtes Abfallen der Kurve bis sich ein konstanter Wert (96 MKZ/OFL) mit 5,2-facher Erhöhung

um den 12. bis 14. Tag einstellt. Das bedeutet, die anfänglich hochgradige Zunahme der DNS-Syntheseaktivität erfährt bei länger fortgesetzter Behandlung eine Abnahme, kenntlich am Gleichbleiben der Zellneubildungsrate.

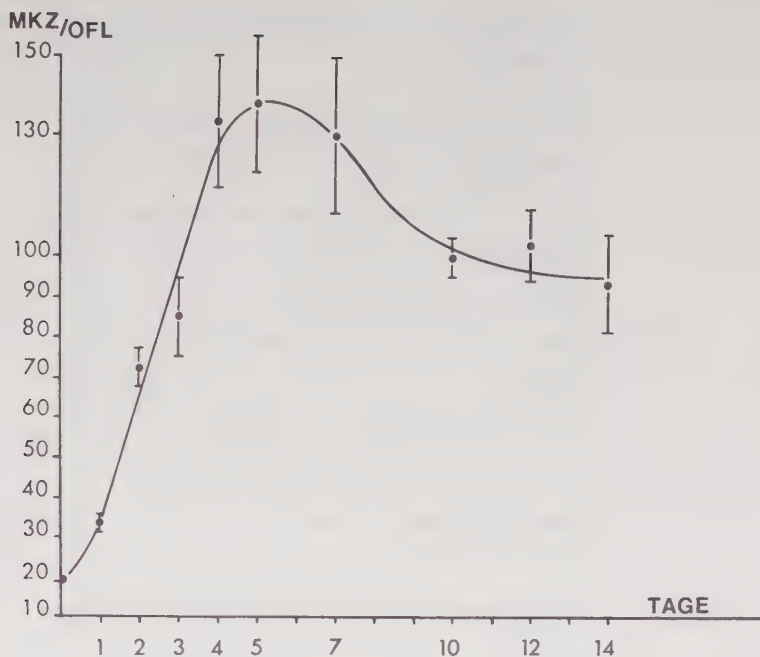


Abb. 16

Die Graphik zeigt die markierte Zahl von Zellen pro mm epidermaler Oberflächenlänge (MKZ/OFL) in Abhängigkeit von der Zeit (in Tagen) während einer 14-tägigen Behandlung mit HDC.

Es ist der Mittelwert mit Standard Irrtum ($\pm S_x$) angegeben.

Tabelle: MKZ/OFL

Tag	MKZ	$\pm S_x$	Tag	MKZ	$\pm S_x$
Ko-Wert	18,45	1,16	5	138,0	17,3
1	34,26	0,8	7	130,0	19,3
2	71,9	5,2	10	100,0	5,08
3	85,2	10,24	12	103,0	9,1
4	133,2	16,9	14	93,5	12,2

7. Vergleichende Betrachtung der Gewebsparameter:

Der Vorteil der semilogarithmischen Darstellung (Abb. 17, 18, 19) liegt darin, das besonders wichtige und biologisch interessante Anfangsintervall gespreizt und dadurch besser darzustellen. Außerdem sind mehrere Parameter auf einem Maßstab zeitlich gut vergleichbar, wodurch eine zeitliche Verschiebung hervorgehoben und eventuelle Verzögerungen im Kurvenverlauf deutlich gemacht werden.

Es wurden folgende Parameterkombinationen gewählt:

- Dicke der lebenden Epidermis und Zahl der markierten Zellen pro Oberflächenlänge
- Dicke des Str. granulosum und Dicke des Str. corneum
- Dicke der lebenden Epidermis und Basalmembranlänge pro Oberflächenlänge.

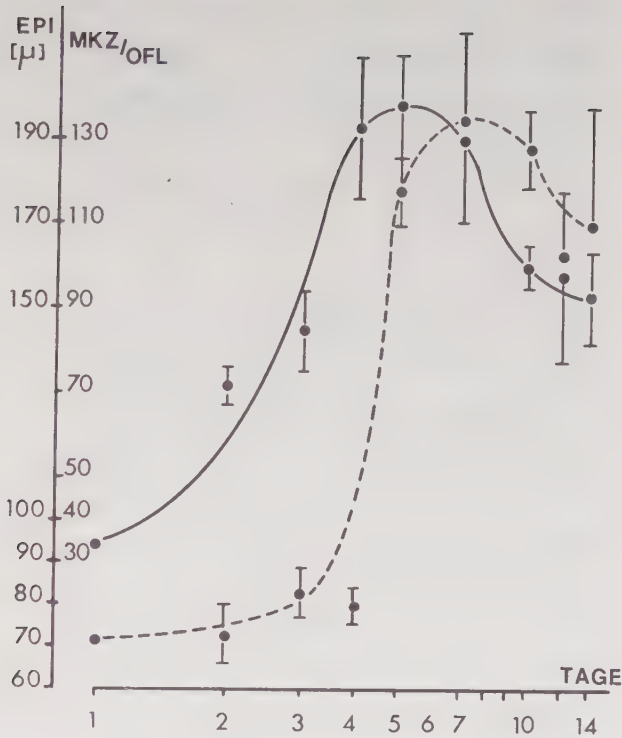


Abb. 17

Ordinate: Dicke der lebenden Epidermis in μm
 (gestrichelte Kurve, linke Skala)
 Zahl der markierten Zellen pro mm Oberflächenlänge
 (ausgezogene Kurve, rechte Skala)

Abscisse: Zeit in Tagen während einer 14-tägigen HDC-Behandlung
 (logarithmische Skala)

Es ist der Mittelwert mit Standard Irrtum angegeben.

Abb. 17 zeigt, daß auf den fast unmittelbaren Anstieg der MKZ/OFL die Dicke der lebenden Epidermis interessanterweise mit einer Verzögerung von etwa 3 Tagen reagiert. Erst am 3. Tag setzt eine starke Dickenzunahme ein. Der steile Anstieg dauert für die MKZ/OFL vom 1. bis 5. Tag an, für die Epidermisdicke vom 3. bis 5. Tag. Die MKZ/OFL hat sich am 4. Tag siebenfacht gegenüber der Norm. Für die Epidermis beträgt die Zunahme hier etwa das 1,75-fache. Am 5. Tag erreicht die MKZ/OFL ihr Maximum mit dem 7,5-fachen des Kontrollwertes. Die Epidermisdicke hat sich zu diesem Zeitpunkt verdreifacht. Am 7. Tag erreicht schließlich auch die Epidermis ihre maximale Dicke (3,4-fache Verdickung), wenn die MKZ/OFL schon wieder abfällt.

Dieser zeitliche Abstand der Maxima der beiden Kurven von 2 Tagen bleibt offenbar über den weiteren Versuchsablauf bestehen. Auch dem Einschwingen der MKZ/OFL auf submaximale Werte folgt die Epidermisdicke

mit der nämlichen Verzögerung von 2 Tagen. Am 14. Tag scheinen sich die MKZ/OFL auf das 5,25-fache und die Epidermisdicke auf das 2,75-fache des Kontrollwertes eingependelt zu haben.

Aus Abb. 18 wird das zeitliche Verhalten im Dickenwachstum des Str. granulosum zum Str. corneum ersichtlich. Dabei überrascht, daß die zunächst verzögerte, dann stärkere Dickenzunahme des Str. granulosum von einer mehr linearen Zunahme der Zahl der Zellagen des Str. corneum begleitet ist (Zuwachs: $1/2$ Zellage pro Tag). Das Str. granulosum-Dickenwachstum steigt absolut gesehen schneller an als die Zahl der Zellagen des Str. corneum. Am 4. Tag hat sich im Str. granulosum der Kontrollwert schon verdoppelt, für das Str. corneum ist jedoch zu diesem Zeitpunkt erst eine 1,2-fache Vermehrung der Zellagen festzustellen. Dieser Abstand der beiden Kurven wird offenbar in etwa beibehalten, denn am 14. Tag - wenn sich die Zahl der

Zellagen des Str. corneum verdoppelt hat - liegt für das Str. granulosum bereits eine Verdreifachung des Kontrollwertes vor.

Gegen Versuchsende wird für das Str. granulosum ein Einschwingen auf einen konstanten maximalen Dickenwert deutlich. Das Str. corneum hingegen zeigt auffälligerweise noch keine derartige Tendenz, sondern behält seine konstante Steigung bis zum 14. Tag und vermutlich noch darüber hinaus bei.

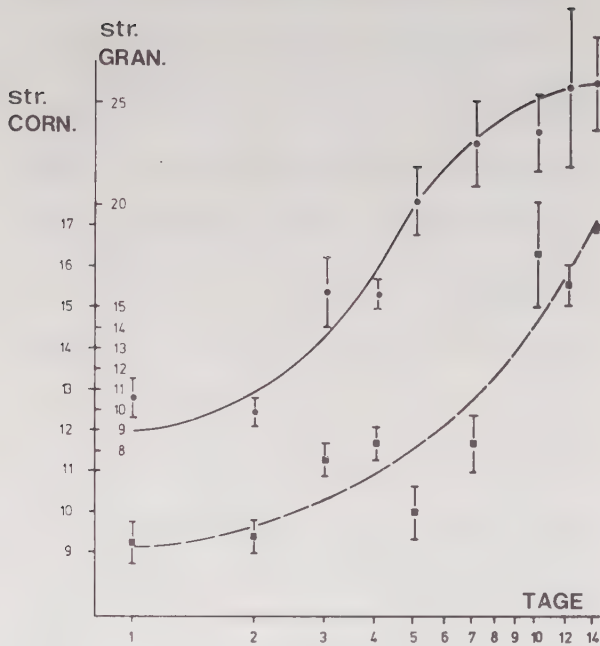


Abb. 18

Ordinate: Dicke des Str. granulosum in μm
(ausgezogene Kurve, rechte Skala)
Dicke des Str. corneum in Zellagen
(gestrichelte Kurve, linke Skala)

Abscisse: Zeit in Tagen während einer 14-tägigen HDC-Behandlung
(logarithmische Skala)

Es ist der Mittelwert mit Standard Irrtum angegeben.

In Abb. 19 finden wir zwischen den beiden Parametern, Dicke der lebenden Epidermis und Basalmembranlänge (BML/OFL), eine relativ gute zeitliche Übereinstimmung. Zu dem verzögerten Dickenwachstum der lebenden Epidermis bis zum 3. Tag gehört im fast gleichen Zeitraum eine nur mäßige Verlängerung der BML/OFL (3,2 % pro Tag). Während des steilen Anstiegs der Epidermisdicke (3. bis 5. Tag) - Steigung $31,4 \mu\text{m}$ pro Tag - weist die BML/OFL ebenfalls eine stärkere Zunahme auf (10 % pro Tag). Am 5. Tag hat sich die Epidermisdicke gegenüber dem Kontrollwert verdreifacht; für die BML/OFL finden wir hier eine 1,25-fache Verlängerung. Vom 7. Tag an, an dem die Epidermisdicke ihr Maximum erreicht hat (3,4-fache Verdickung), nimmt die BML/OFL bis Versuchsende wieder einen etwas weniger steilen Verlauf mit relativ konstantem Zuwachs (2,5 bis 3 % pro Tag). Dabei erzielt die BML/OFL am 10. Tag eine 1,5-fache, am 14. Tag schließlich eine 1,6-fache Verlängerung.

Die Epidermisdicke pendelt sich zwischen 7. und 14. Tag auf submaximale Werte ein und liegt bei Versuchsende nur noch bei 87,2 % des am 7. Tag erreichten Maximalwertes. Das entspricht noch einer 2,75-fachen Verdickung gegenüber dem Kontrollwertniveau.

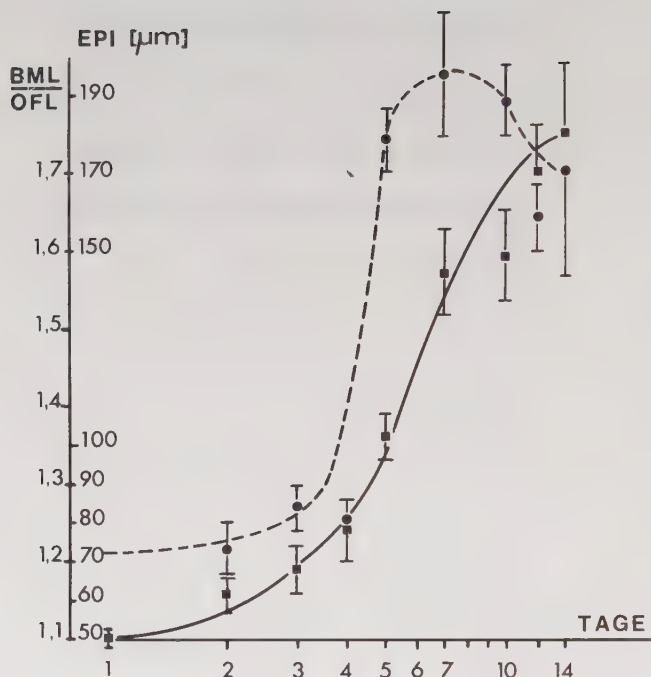


Abb. 19

Ordinate: Dicke der lebenden Epidermis in μm
 (gestrichelte Kurve, rechte Skala)
 Quotient Basalmembranlänge/Oberflächenlänge
 (ausgezogene Kurve, linke Skala)

Abcisse: Zeit in Tagen während einer 14-tägigen HDC-Behandlung
 (logarithmische Skala)

Es ist der Mittelwert mit Standard Irrtum angegeben.

8. Korrelationen der Parameter:

Für die Bedeutung des Korrelationskoeffizienten gilt, daß in biologisch ermittelten Bezugsverhältnissen erst r-Werte zwischen $\sqrt{0,6}$ u. $\sqrt{1}$ (absolut) für lineare Beziehungen sprechen. Dieser rein mathematische Zusammenhang der Parameter läßt allerdings keine Rückschlüsse auf causale Zusammenhänge zu.

Von den für die Gesamtversuchsdauer errechneten Korrelationen erwiesen sich folgende Parameterkombinationen als interessant:

$$1. \frac{\text{MKZ/OFL}}{\text{leb. Epidermis}} : r = 0,61$$

$$2. \frac{\text{MKZ/OFL}}{\text{Str. granulosum}} : r = 0,69$$

$$3. \frac{\text{MKZ/OFL}}{\text{BML/OFL}} : r = 0,54$$

$$4. \frac{\text{leb. Epidermis}}{\text{BML/OFL}} : r = 0,86$$

$$5. \frac{\text{leb. Epidermis}}{\text{Str. granulosum}} : r = 0,90$$

$$6. \frac{\text{leb. Epidermis}}{\text{Str. corneum}} : r = 0,64$$

$$7. \frac{\text{Str. granulosum}}{\text{Str. corneum}} : r = 0,85$$

9. Schematische Darstellung der Epidermisveränderungen (s. Abb. 20 a, 20 b):

Folgende Parameter wurden quantitativ aufgetragen:

1. Dicke des Str. corneum;

Maßstab: 1 cm $\hat{=}$ 8,4 Zellagen

2. Dicke der lebenden Epidermis;

Maßstab: 1 cm $\hat{=}$ 31 μ m

3. Dicke des Str. granulosum;

Maßstab: 1 cm $\hat{=}$ 31 μ m

4. Basalmembranlänge

In der Zeichnung wird eine Sinusschwingung verwendet. Die Amplitude ist so gewählt, daß der jeweilige Längenüberschuß gegenüber der Oberflächenlänge quantitativ dargestellt wird. Beim Kontrollwert z.B. ist BML um 9 % größer als OFL, also 6,54 cm statt 6 cm.

5. MKZ/OFL;

Maßstab: 2 gezeichnete Zellen
 pro 6 cm OFL entsprechen
 20 MKZ pro 1 mm
 OFL im Präparat.

Außer dem Kontrollwert (Ko) wurden die Tage 2, 5, 7, 10, und 14 des Versuches quantitativ zur Darstellung gebracht, weil dort die epidermalen Veränderungen besonders augenfällig waren.

Abb. 20 a

Schematische, quantitative
Darstellung der Epidermis



Meßwerte:	Ko	2. Tag	5. Tag
Dicke Str. corneum (Zellagen)	8,96	9,36	10,0
Dicke Epidermis, unverhornt (μm)	58,1	73,2	177,9
Dicke Str. granulosum (μm)	8,58	9,9	20,3
BML/OFL	1,09	1,17	1,37
MKZ/OFL	18,45	71,9	138,0

Abb. 20 b

Schematische, quantitative
Darstellung der Epidermis

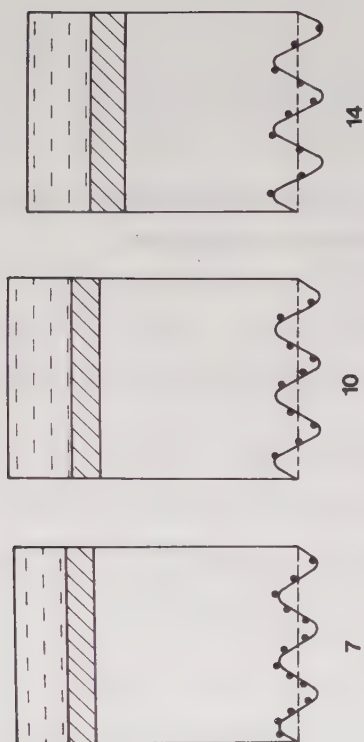
corn.

gran.

Epid.

BML
MKZ

1 — 6 cm — 1



Meßwerte:

Dicke Str. corneum (Zellagen)
Dicke Epidermis, unverhornt (μm)
Dicke Str. granulosum (μm)
BML/OFL
MKZ/OFL

7. Tag

11,71
194,7
23,1
1,57
130,0

10. Tag

16,35
188,6
23,7
1,60
100,0

14. Tag

16,97
170,3
26,1
1,75
93,5

IV. B E S P R E C H U N G D E R E R G E B N I S S E

In seinen Untersuchungen über mögliche Steuerfaktoren für die Kontrolle der Epidermisdicke fordert BULLOUGH (10,11) bei der Erklärung der inhibitorischen Wirkung des "Epidermal Chalone" eine Einteilung nach der Mitoserate in 3 Phasen:

Phase 1: Bei Epidermistypen mit niedriger mitotischer Aktivität und relativ hoher Chalone-Konzentration (z.B. normale Mäuseepidermis; hypoplastische menschliche Epidermis) führt eine Änderung der Mitoserate zu einer entsprechenden Änderung der Differenzierungsrate. Durch diesen Mechanismus wird die Epidermisdicke konstant gehalten.

Phase 2: Davon unterschieden wird ein Epidermistyp mit relativ hoher Mitoserate (normale menschliche und Meerschweinchen-Epidermis sowie die hyperplastische Mäuseepidermis). Hier ist die Chalonekonzentration vermindert. Diese hohe Mitoserate

(alle Basalzellen durchlaufen den Mitosezyklus) bedingt einen Druck im Basallager, der zur Faltung der Basalmembran führt. Die dadurch pro OFL vermehrt gebildeten Zellen führen zu einem Anwachsen der Epidermisdicke.

Phase 3: Die Zellneubildungsrate übertrifft die Rate des Zellverlustes (epidermales Karzinom). Der Chalonegehalt ist stark vermindert. Dieser Gewebsmechanismus führt zu einem beständigen Dickenwachstum der Epidermis.

Die in Phase 2 vorliegenden Verhältnisse (erhöhte Mitoserate) wurden in vielen experimentellen Arbeiten untersucht:

So fanden z.B. BULLOUGH und LAURENCE (13) eine Erhöhung der Mitoserate nach Wundsetzung. BROPHY und LOBITZ (9) sowie HENNINGS und ELGJO (50) bestätigten dieses Reaktionsmuster der Epidermis in ihren Untersuchungen nach dem von PINKUS (66) angegebenen Verfahren des Hornschichtabrisses. Auch wieder-

holte Anwendungen anderer Stimulationsreize führten zu demselben Ergebnis einer vermehrten Mitoseaktivität: z.B. UV-Licht (GIACOMETTI und MONTAGNA (43)), radioaktive Beta-Bestrahlung (YAMAGUCHI und TABACKNICK (82)) und Friktionsreize (MACKENZIE et al. (58, 59)).

Auch die in dieser Untersuchung während einer 14-tägigen HDC-Behandlung an der Ohrepidermis des Meerschweinchens beobachtete Hyperplasie ist nach dem von BULLOUGH (10) angegebenen Schema (s. o.) der Phase 2 zuzuordnen. Es handelt sich dabei um eine reversible, numerische Zunahme der epidermalen Zellzahl unter Konstanz der Zoneneinteilung und ohne pathologische Proliferationsmerkmale (Kernpolymorphie, Dyschromasie, abnorme Chromatinstmuster, Dyskeratose etc.).

Zum Verständnis der proliferationskinetischen Vorgänge, die zur Hyperplasie führen, ist es nötig, sich ein Bild vom normalen epidermalen Zellzyklus zu machen. HOWARD und PELC (52, 63) beschreiben 4 Phasen, deren jeweilige Längen für eine bestimmte Zellpopulation konstant sind. Nach der Mitosephase (M) bleibt die Zelle eine gewisse Zeit in der so-

nannten Interphase (G_1) und beginnt dann zur Verdoppelung des genetischen Materials die DNS-Synthesephase (S); schließlich, nach einer kurzen postsynthetischen Phase (G_2), folgt wiederum die Mitose.

YAMAGUCHI (82) ermittelte für die Dauer des Mitosezyklus bei der normalen Meerschweinchenepidermis eine Generationszeit von 91 - 92 Stunden, die sich wie folgt in die 4 Phasen aufschlüsselt:

M	:	0,4 - 0,6 Std.		S	:	9,3 - 9,6 Std.
G_1	:	76,0 - 77,0 Std.		G_2	:	5,0 - 5,6 Std.

Anderen Untersuchungen*zufolge (17) dauert der Generationszyklus der Basalzelle der normalen, unbeeinflussten Meerschweinchenepidermis etwa 96 Stunden, im einzelnen:

M	:	1,5 Std.		S	:	9,3 Std.
G_1	:	81,2 Std.		G_2	:	4,0 Std.

Entgegen der Ansicht GREULICHs (44), wonach bei der Zellteilung nur Tochterzellen vom "Basaltyp" entstehen und an anderer Stelle dafür eine ältere Basalzelle aus dem Basallager gedrängt wird und mit der Differenzierung beginnt, konnten PEREIRA und LEBLOND (65) durch autoradiographische Lokalisation von ^3H -Thymin-markierten Tochterzellen zeigen, daß grundsätzlich 3 Möglichkeiten zum Verbleib neugebildeter Zellen bestehen können:

- beide Tochterzellen verbleiben im Basalzellager ("basal pairs")
- beide Tochterzellen wandern aufwärts ("outgoing pairs")
- eine Zelle steigt aufwärts und eine bleibt in der Basalschicht ("mixed pairs").

Diese Untersuchungen wurden zwar am Oesophagus der Ratte durchgeführt, dessen Epithelzellen bekanntlich kein kohärentes Str. corneum bilden, jedoch wird angenommen, daß derartige Mechanismen ebenfalls an der Epidermis stattfinden (14, 17). Ein direkter Beweis steht hierfür allerdings noch aus.

Die bei der HDC-Hyperplasie auftretende Verdickung der Epidermis (Akanthose - ortho-Hyperkeratose) ist ausschließlich Folge einer gesteigerten Proliferation (17).

Experimentelle (16, 39) wie auch am klinischen Beobachtungsgut (Psoriasis vulgaris) erhobene Gewebsanalysen haben gezeigt, daß die Epidermis bei einer solchen Hyperplasie das 4- bis 6-fache ihrer ursprünglichen Größe nicht übersteigt (17, 40, 75).

In Untersuchungen an der Meerschweinchen-Epidermis des Ohres konnte anhand verschiedener HDC-Konzentrationen demonstriert werden, daß das Ausmaß der Hyperplasie, vor allem jedoch die Zeitdauer bis zu deren Ausprägung, konzentrationsabhängig ist (62, 75). Anscheinend wird dabei in Abhängigkeit von der Stärke des induzierenden Reizes wieder ein Gleichgewicht zwischen Zellzufluß- und Abflußrate angestrebt (17, 69).

Folgende Einzelmechanismen der epidermalen Hyperplasie unter HDC wurden anhand früherer experimenteller Untersuchungen an der Meerschweinchenohr-

Epidermis festgestellt (17):

- Vergrößerung des proliferating pool
- Verkürzung der Generationszeit
- Verkürzung der transit-time
- Vergrößerung des differentiating pool.

1. Typisch für die experimentelle Stimulation der Epidermis ist das Anwachsen des proliferating pool (28). Davon legen die in früheren Untersuchungen mit HDC (62, 69) für die MKZ/OFL gefundenen Werte Zeugnis ab. Dabei wurde je nach Konzentration und Einwirkzeit des Hyperplasicogens eine gegenüber der Norm um das 9,5-fache (69) bzw. 15- bis 20-fache (62) Anzahl markierter Zellen pro mm OFL gemessen.

Man darf somit annehmen, daß eine erhebliche Steigerung der Zahl markierter Zellen, die stets, wenn auch in unterschiedlichem Maße, bei verschiedenen anderen experimentellen Untersuchungen (35, 36, 39, 46, 47, 72, 76)

beobachtet wurde, ein Zeichen einer hyperplastischen Epidermis ist. Dazu gehört auch die Psoriasis, für die VAN SCOTT und EKEL (75) eine Steigerung des Mitoseindex um das 3-fache gegenüber gesunden Kontrollpersonen angegeben haben. WEINSTEIN und FROST (79) konnten diese Beobachtung mit einem 4-fach erhöhten Markierungsindex weiter belegen. Andere Untersucher wiesen eine 6- bis 7-fache, in einem Fall sogar 15-fache Erhöhung der MKZ/OFL an der psoriatischen Haut nach (31).

Ein weiterer Parameter, in dem o. g. Autoren (75) ein Maß für die Basalzellpopulation sehen, nämlich die Basalmembran, zeigt durch ihre Verlängerung eine Vergrößerung des proliferating pool an. An der Meerschweinchen-Epidermis wurde nach 14-tägiger Behandlung mit vergleichbarer HDC-Konzentration eine 62 %ige Verlängerung der BML/OFL gemessen (62, 69); eine Verdoppelung hatte sich nach 21 Behandlungstagen eingestellt (62).

Auch wir konnten in unserer Untersuchung diese Werte bestätigen (s. Abschn. III. C 5.:

60 %ige Zunahme der BML/OFL am 14. Tag mit offenbar weiter ansteigender Tendenz).

Eine gegenüber normalen Kontrollpersonen erheblich verlängerte BML zeigt sich auch bei Psoriatikern. VAN SCOTT und EKEL (75) konnten eine 3-fache Verlängerung der BML nachweisen. Allerdings liegt in dieser Untersuchung eine auf 3 Lagen angewachsene proliferative Zone vor, weshalb genannte Autoren sogar ein 9-faches Anwachsen des proliferating pool annehmen.

2. Für die Verkürzung der Generationszeit bei der Meerschweinchen-Epidermis unter HDC-Behandlung werden in der Literatur Werte von 90 - 120 Std. (unbehandelt) auf 16 Std. (17, 62) angegeben, die sich wie folgt in die einzelnen Phasen aufgliedern:

M : 1,0 Std.	S : 7,2 Std.
G ₁ : 4,8 Std.	G ₂ : 3,0 Std.

Beim Vergleich mit der Generationszeit der unbehandelten Meerschweinchen-Epidermis (siehe S. 70) wird ersichtlich, daß der Interphase G_1 für die Verkürzung der Generationszeit bei der stimulierten Epidermis die Schlüsselrolle zufällt.

Auch YAMAGUCHI (82) fand in seinen Untersuchungen über die epidermale Zellkinetik an der Meerschweinchen-Epidermis bei der Beta-Strahlen-induzierten Hyperplasie eine Verkürzung der Generationszeit auf 16 Std. ebenfalls vorwiegend durch Verkürzung von G_1 (3 - 4 Std.) und G_2 (2,3 - 2,6 Std.), was auch gut mit anderen Messungen (14) übereinstimmt. Andere Untersucher wiederum geben eine Generationszeit von 60 Std. für die normale Meerschweinchen-Epidermis an, die sich z.B. nach "Stripping" auf die Hälfte verkürzt (27). Offenbar stellt eine Verkürzung auf 16 Std. die unterste Grenze dar. Ein ähnliches Verhalten zeigt sich auch bei der Psoriasis vulgaris. WEINSTEIN und FROST (79) berechneten hierfür eine Verkürzung auf 37,5 Std. anstelle einer normalen Generationszeit von 163 Std.

3. Beobachtungen über eine Verkürzung der transit-time liegen durch BULLOUGH (11) vor, der ursächlich einen Abfall der Konzentration des epidermalen Inhibitors Chalone vermutet.

Die Unterschiede zwischen transit-time (= Durchwanderungszeit) und turnover-time (= Erneuerungszeit) bei der normalen Epidermis, auf die EPSTEIN und MAIBACH (37) aufmerksam gemacht haben, verwischen sich bei der hohen proliferativen Aktivität der hyperplastischen Epidermis (14), weshalb beide Begriffe hier synonym gebraucht werden können.

Untersuchungen mit HDC ergaben eine Verkürzung von 120 Std. auf 60 - 70 Std. (14, 17). Jedoch wird offenbar eine minimale transit-time von 3 Tagen bei der Meerschweinchen-Epidermis nicht unterschritten (14). Eine ähnlich starke Verkürzung der Mauserungszeit der lebenden Epidermis von 13 - 14 auf 2 - 4 Tage findet sich bei Psoriasis vulgaris (5, 22, 37, 71, 75, 79, 80).

4. Die akanthogene Wirkung des HDC ist des öfteren beschrieben worden (54, 70). In der Literatur wird eine Vergrößerung der gesamten Epidermisdicke beim Meerschweinchen um das 3- bis 5-fache angegeben (14, 17, 62, 69). Wir konnten diese Werte anhand der in unseren Untersuchungen festgestellten maximal 3,3-fachen Zunahme der Dicke der lebenden Epidermis am 7. Behandlungstag mit HDC bestätigen (siehe Abschn. III. C 1.). Auch hier wieder finden sich in der Literatur für die Psoriasis vulgaris vergleichbare Messungen. Dabei schwanken die Angaben zwischen einer 4- bis 6-fachen Verdickung der Epidermisschicht (26, 31, 75) und damit des differentiating pool.

A DER PARAMETER MKZ/OFL

Um eine Aussage über die proliferative Aktivität der Epidermis machen zu können, ist es erforderlich, die Zahl der markierten Zellen quantitativ zu erfassen. In der Literatur wird hierfür häufig der Markierungsindex angegeben, d. h.

$$\frac{\text{Zahl markierter Basalzellen}}{\text{Gesamtzahl der Basalzellen}} .$$

Dabei wird der Prozentsatz markierter Zellen unter ca. 500 oder mehr ausgezählten Basalzellen ermittelt.

Wir entschieden uns für die Auszählung markierter Zellen pro mm OFL aufgrund gewisser Nachteile des anderen Verfahrens (41, 50).

Entgegen der früheren Ansicht, daß in der normalen, ungereizten Epidermis proliferierende Zellen ausschließlich in der einschichtigen Basalschicht lokalisiert sind (35, 36, 46, 47, 50, 72, 76), konnte PENNEYS (64) anhand autoradiographischer Untersuchungen nachweisen,

daß an der normalen menschlichen Epidermis 32 % der markierten Zellen suprabasal auftreten. Auch bei einer schnell proliferierenden Epidermis treten teilungsfähige Zellen mehrschichtig bzw. suprabasal auf (7, 8, 10, 28, 50). Bei Psoriasis trifft dies sogar zu 49 % zu (64).

Eine genaue histologische Abgrenzung zur differenzierenden Fraktion ist dabei praktisch unmöglich (50). Da der Markierungsindex aber lediglich auf die Basalzellschicht Bezug nimmt, kann er somit nicht zu einer objektiven Ermittlung aller proliferierenden Zellen herangezogen werden. Im übrigen berücksichtigt die Auszählung des Prozentsatzes markierter Zellen pro 500 gezählter Basalzellen nicht die bei unserer Hyperplasie recht ausgeprägte Papillomatose, weshalb der Markierungsindex unter Umständen normal, die MKZ/OFL jedoch aufgrund des stärker welligen Verlaufs der Basalmembran und der damit verbundenen größeren Basalzellzahl pro bestimmte OFL bereits recht groß sein kann (41). Die von uns verwendete zuletzt erwähnte Methode gibt also ein genaueres

Bild der proliferativen Aktivität unter einer bestimmten epidermalen Oberfläche wieder.

Zum Verfahren der Autoradiographie und der Aussagekraft der gemessenen Markierungszahl (MKZ) ist noch zu bemerken:

Da die Reichweite der beim Tritiumzerfall (${}^3_1\text{H} \rightarrow {}^3_2\text{He} + \text{Beta}^- \rightarrow$) freiwerdenden Beta-Strahlung nur 1,5 - 2,0 μm beträgt (WEINSTEIN und FROST (78, 79)), unsere histologischen Schnitte aber durchschnittlich ca. 4 μm dick waren, war es möglich, daß die von einigen tiefergelegenen Zellkernen ausgehende Strahlung die oben aufliegende Fotoschicht nicht erreicht und somit auch nicht zu einer Schwärzung von Silberkörnern geführt hat. Dieser Fehler kann mit der Formel nach ABERCROMBIE (1) kompensiert werden:

$$\text{Durchschnittliche Kernzahl} = \frac{\text{markierte Kerne}}{\text{Kernlänge} + \text{Schichtdicke}} \times \left(\frac{\text{Schnittdicke}}{\text{Kernlänge} + \text{Schichtdicke}} \right)$$

Da der Absolutwert jedoch bei unserer Betrachtung nicht von Bedeutung war, sondern hier nur die Relation interessierte, wurde auf die Multiplikation mit einem konstanten Korrekturfaktor verzichtet.

Histologisch auffällig ist die verschieden stark ausgeprägte Markierung der Kerne. Hierfür gibt es zwei Gründe: Einmal der jeweilige Abstand der Strahlenquelle vom Film - größerer Abstand, daraus folgt abgeschwächte Strahlung - zum anderen der Standort im Zellzyklus, d. h. wie weit die DNS-Synthese zum Zeitpunkt der Injektion des Tracers fortgeschritten war, was der Menge des effektiv während der 40 Minuten eingebauten Thymidins entspricht.

B VERGLEICH DER GEWEBSVERÄNDERUNGEN

1. Verhalten der MKZ/OFL und der Dicke der lebenden Epidermis:

Wie der steile Anstieg der MKZ/OFL (Abb. 16) 24 Std. nach der ersten HDC-Behandlung aufzeigt, ist die Basalzellpopulation offensichtlich in der Lage, auf den stimulierenden Reiz des HDC hin rasch mit einer hochgradigen Steigerung der Proliferationsaktivität zu reagieren.

Der sofort einsetzende steile Anstieg der MKZ/OFL schon am 1. Tag steht allerdings im Widerspruch zu der bei Hornschichtabriß (HSA) beobachteten Verzögerung der proliferativen Reaktion (8, 18, 27). Es muß aber darauf hingewiesen werden, daß das Verfahren der HSA im Gegensatz zu der chemischen Stimulation der Epidermopoese mit HDC eine Wunde setzt, die aufgrund der Exposition lebenden Gewebes möglicherweise zum Verlust der zur Synthesesteigerung benötigten Enzyme führt. Dieses un-

terschiedliche Verhalten der Epidermis mit bzw. ohne Zelldefekt auf die HDC-Applikation wird in anderen Untersuchungen (62) bestätigt. Auch dort fand sich ein hochgradiges, beinahe lineares Ansteigen des Markierungsindex gleich zu Beginn der HDC-Einwirkung. Bei HDC-Behandlung nach HSA war eine gleichartige DNS-Synthesesteigerung erst 48 Std. später festzustellen (62).

Da in unseren Untersuchungen keine Exposition lebenden Gewebes vorlag, weist die sofortige Erhöhung der DNS-Syntheseaktivität auf beträchtliche epidermale Reserven hin (17), d. h. erforderliche Enzyme etc. sind möglicherweise in genügender Menge in inaktiver Form vorhanden und können unmittelbar bereitgestellt werden oder werden rasch de novo synthetisiert.

Aus Abb. 11, 16 bzw. 17 wird ersichtlich, daß dem steilen Anstieg der MKZ/OFL die Dickenwerte für die lebende Epidermis erst mit einer Verzögerung von 2 - 3 Tagen folgen. Diese Verzögerung bleibt über den gesamten Zeitraum der Behandlung erhalten (Abb. 17).

Die der hohen MKZ entsprechende massive Zellneubildung setzt sicherlich mit einer, wenn auch sehr geringen Verzögerung ein. Es treten viele Zellen in die Synthesephase über (hohe Markierung), trotzdem kann erst nach einer bestimmten, nicht unterschreitbaren Zeit eine Teilung während der Mitosephase in 2 Tochterzellen erfolgt sein. In der Literatur wird für diese Vorgänge, die zur Verdoppelung der Epidermiszelle führen (S-, G₂-, M-Phase), eine minimale Zeit nicht unter 12 Std. angegeben (12, 17, 62, 80, 82).

Die neugebildeten Tochterzellen durchlaufen nun erneut und möglicherweise synchronisiert (SCHELLANDER (73)) den Zyklus. Dafür wird eine minimale Zeit von 16 Std. angegeben (62, 82). Damit (28 Std.) läßt sich jedoch keinesfalls die vorliegende zeitliche Verzögerung im Epidermisdickenwachstum von 2 - 3 Tagen erklären. Jedoch darf angenommen werden, daß der Grad der Synchronisation sowie der Zyklusveränderung von

der Reizintensität des Hyperplasieinduktors abhängt, der ja bei der von uns verwendeten Konzentration nicht zwangsläufig auch zu einer maximalen Reaktion führen muß. Eine Annahme, die durch die für die Hyperplasieentwicklung festgestellte zeitliche Abhängigkeit von der HDC-Konzentration (62) bestätigt wird.

Die hohe MKZ/OFL schon am 1. Tag läßt den Schluß zu, daß einige Basalzellen "vorzeitig" bzw. beschleunigt in die S-Phase eingetreten sind. Diese Annahme stützt sich auf die Befunde an der Basalmembran. Denn die BML als Parameter der Basalzellpopulation (75) war zu diesem Zeitpunkt praktisch unverändert, wie auch andere Messungen bestätigen (69). Es sind jedoch vermehrt Zellen in die S-Phase eingetreten (hoher MKZ). Folglich deutet dieses auf einen veränderten Zellzyklus hin, der ja - wie bereits erwähnt - eine variable Größe ist (10, 14, 17, 18, 22, 26, 74, 79).

Ungeklärt ist, ob diese Steigerung der proliferativen Aktivität durch ein zusätzliches Einschleusen von Basalzellen in den Zellzyklus, die sich in der Ruhepause G_0 (LAJTHA (57)) befinden, zustande kommt. Die HDC-Stimulation stellt möglicherweise einen "Trigger" dar, für dieses Einschleusen aus der G_0 - bzw. G_1 -Phase in die Synthesephase.

Die wohl wahrscheinlichste Erklärung liegt also in einer Veränderung im Ablauf des Zellzyklus der Einzelzelle, wobei ein beschleunigter Zyklusablauf wahrscheinlicher ist als eine S-Phasen-Verlängerung (74), für die in der Literatur (21, 62, 78, 79, 82) relative Konstanz angegeben wird. Der sofortige steile Anstieg der MKZ/OFL weist somit auf eine jähe Verkürzung dieses Zyklus (hauptsächlich der G_1 -Phase hin (17, 62, 82). Ähnliche Beobachtungen wurden auch bei anderen Untersuchungen gemacht (40).

Zwei Faktoren könnten außerdem an einer Zunahme der Epidermisdicke beteiligt sein:

- Zellvermehrung, d. h. Zellzufluß
- Volumenveränderungen der Zellen (Hypertrophie).

Die Beobachtung einer rapiden Zellvermehrung ist durch den sehr steilen Anstieg der MKZ genügend untermauert. Wenn man davon ausgeht, daß Zellvolumenänderungen für das zunächst langsame Dickenwachstum verantwortlich sind, so müßten Zellen mit geringem Volumen entstanden sein. Die andere Möglichkeit bestünde darin, daß die Durchflußrate erhöht sein könnte, d. h. die Differenzierung läuft schneller ab.

Vom 3. Tag an setzt eine starke Epidermisverdickung ein (Abb. 11, 17). Auch hier sind die gleichen Betrachtungen möglich, nämlich Volumenzunahme oder Verlangsamung des Differenzierungsablaufes.

Falls beide Erscheinungen (Verzögerung und anschließende starke Verdickung) dieselbe Ursache haben, hieße das:

a) Das Zellvolumen ist erst relativ klein, und die Zellen erreichen später (ab 3. Tag) im Zuge der Zellreifung ihr normales Volumen, ja hypertrophieren möglicherweise sogar, wie die in der Literatur beschriebene Volumenzunahme bei der Akanthose (5, 19, 27, 48) aufzeigt,

oder

b) die Durchflußrate wird von Beginn der HDC-Behandlung an erhöht, erreicht etwa am 3. Tag ihr Maximum, um danach wieder abzusinken. Aussagen über zeitliche Veränderungen im Differenzierungsablauf müssen in diesem Zusammenhang jedoch rein hypothetischer Natur sein.

Eine mögliche Erklärung für die Entstehung der anfänglich verzögerten Dickenzunahme in der Epidermis liegt jedoch auch in der

Annahme, daß sowohl die Differenzierung beschleunigt abläuft, als auch eine Zellvolumenänderung beteiligt ist. Im übrigen ist zu berücksichtigen, daß die Epidermisdicke als Flächenmessung erfolgte; das bedeutet, daß bei der zu erzielenden Meßgenauigkeit eine Zellschicht mehr oder weniger wohl kaum ins Gewicht fällt. Es ist daher wahrscheinlich, daß der proliferative "pool" erst relativ stark angewachsen sein muß, ehe sich dies in der Dickenmessung bemerkbar macht.

Der steile Anstieg der MKZ/OFL ab dem 2. Tag kommt möglicherweise dadurch zustande, daß hier eine Überlagerung von 2 Faktoren stattfindet; d. h. es liegt ein stark beschleunigter Zellzyklus vor, der zu einer zahlenmäßigen Vermehrung der Basalzellen führt, die dann ebenfalls wieder einen verkürzten Zyklus durchlaufen. Da nach unseren Ergebnissen, die wir in der Literatur (69) bestätigt fanden, die BML unter der Behandlung mit HDC etwa vom 3. Tag an stärker ansteigt, könnte der am 7. Tag ein-

setzende Abfall in der MKZ/OFL wieder auf einer Verlängerung der Generationszeit beruhen.

Für die Epidermis stellt sich nach einer 3-tägigen Verzögerung eine zum MKZ/OFL proportionale Dickenzunahme ein. Diese Tatsache kann allerdings kaum durch den Korrelationskoeffizienten bekräftigt werden, der hier den Wert ($r = 0,61$) aufweist. Einer engeren Korrelation steht wohl die zeitliche Versetzung der beiden Kurven im Wege.

Besonders interessant ist das Versuchsintervall zwischen 5. und 7. Tag: Die MKZ hat ihr Maximum erreicht und fällt wieder leicht ab, während sich die Epidermis ihrer maximalen Verdickung nähert.

Das Einschwenken der Kurve der MKZ/OFL auf submaximale Werte ist möglicherweise Folge der stark angewachsenen differenzierenden Population. Eine dadurch verminderte HDC-Wirkung muß in Betracht ge-

zogen werden.

Da täglich stets dieselbe Menge HDC appliziert wurde, wäre bei einer Verdickung des epidermalen Gewebes (größeres Volumen) eine stärkere Verdünnung und damit eine verringerte Wirkkonzentration als Folge denkbar. Eine weitere Möglichkeit wäre, daß die sich stetig verdickende Hornschicht eine Penetration des HDC zusehends erschwert. Dagegen spricht jedoch die bei der Hyperkeratose aufgrund geringerer struktureller Verfestigung in der Literatur (55) angegebene bessere Penetration (s. Abb. 8).

Zum Zeitpunkt, an dem das Epidermisdickenwachstum seinen Maximalwert erreicht, beträgt das "Nachhinken" auf den Verlauf der Kurve der MKZ etwa 2 Tage. Nehmen wir die oben erwähnte indirekte "Steuerung" über die Epidermisdicke als wahrscheinlich an, dann verursacht die im Vergleich zur Stärke der HDC-Stimulation bis zum 10. Tag offenbar überschießend verdickte Epi-

dermis gegenregulatorisch eine Reduktion der MKZ/OFL, möglicherweise aufgrund einer durch größeres Volumen verringerten Wirkkonzentration. Als Folge der entsprechend verringerten proliferativen Aktivität nimmt dann das Epidermisdickenwachstum ab. Dadurch wird wiederum der MKZ-Abfall verzögert, bis sich schließlich im Sinne eines Einpendelns bezüglich Epidermisdicke und MKZ ein steady-state einstellt.

Auffällig ist schließlich die große Ähnlichkeit im Kurvenverhalten von lebender Epidermis und Rete Malpighi (s. Abb. 11, 13). Der Grund für ihren nahezu parallelen Verlauf ist offenbar die im Vergleich zum isolierten Str. granulosum wesentlich größere Dicke der unverhornten Epidermis, so daß die Granulosumwerte wohl nicht so sehr ins Gewicht fallen.

2. Vergleich der Dicke des Str. granulosum
und Str. corneum:

Von besonderer Bedeutung für die Funktion des Str. corneum ist naturgemäß die Gewebsschicht, aus der die fertigen Hornzellen hervorgehen: das Str. granulosum. Sein Vorkommen unterhalb der Hornschicht stellt ein charakteristisches, morphologisches Zeichen der normalen Verhornung (Orthokeratose) dar (33). Auch die kolumnäre Schichtung als Folge des unterschiedlichen Reifegrades bzw. Zellalters (14, 18, 20) nimmt hier ihren Ausgang.

Eine Verhornungsstörung (Parakeratose), wie sie bei der Psoriasis vulgaris imponiert und vorübergehend auch nach Hornschichtabriß (HSA) (31) gefunden wurde, geht einher mit dem Verlust des Str. granulosum (6, 28, 31, 40, 75). Mit dessen Wiederauftreten bei HSA nach etwa 40 Std. beginnt wieder eine Orthokeratose (31).

Elektronenmikroskopisch-autoradiographische Untersuchungen am Meerschweinchen über die Zelldifferenzierung im Str. granulosum (33) haben ergeben, daß in dieser noch zur lebenden Epidermis gehörigen Schicht nach dem Grad der Ausdifferenzierung drei Zelltypen unterschieden werden können, die die Autoren

- initiale
- reife) Granulosumzelle
- terminale

nannten. Es handelt sich im Gewebsabschnitt Str. granulosum somit nicht um eine funktionell einheitliche Zellgruppe, sondern um unterschiedliche Funktionszustände.

Die Durchflußrate durch dieses Kompartiment, d. h. die Produktion von regulären Hornzellen, ist möglicherweise begrenzt. Eben erwähnte Untersuchungen (33) erbrachten auf autoradiographischem Wege für die normale Meerschweinchen-Epidermis eine Zeit von etwa 24 Std., in der in der Granulosumschicht eine Hornzellschicht neugebildet

wird. Für die hyperplastische Epidermis stehen diesbezügliche Messungen allerdings noch aus, jedoch ist hier eine gewisse transit-time-Verkürzung sehr wahrscheinlich. Trotzdem ergab sich eine während der ganzen Versuchsdauer anhaltende Dickenzunahme im Str. granulosum, das sich bei Versuchsende etwa verdreifacht hatte.

Um die bei der HDC-Behandlung beobachtete reguläre Verhornung zu gewährleisten, kann die Zelle vermutlich auch im Str. granulosum eine bestimmte minimale transit-time nicht unterschreiten (14). In der Literatur wird für die gesamte lebende Epidermis diesbezüglich - wie bereits erwähnt - eine minimale Reifezeit von 3 Tagen angegeben (14, 31). Es liegt hier offensichtlich ein anderes Verhalten vor als bei der Psoriasis vulgaris, wo bei einer verkürzten transit-time ein Dünnerwerden des Str. granulosum beobachtet wird (5, 6, 31, 40, 74).

Nehmen wir an, daß sich die transit-time für das Str. granulosum zwar unter der HDC-Einwirkung verkürzt hat, die vermehrt angebotene Zellmenge (hohe MKZ/OFL) zunächst jedoch nicht bewältigt werden kann, so würde das eine Verdickung dieser Schicht erklären. Wenn man nun zugrunde legt, daß keine Volumenänderungen vorliegen, befindet sich anfangs kein Kompartiment der Epidermis im steady-state, da ja alle Schichten dicker werden. Das Dickenwachstum des Str. granulosum nimmt sogar noch zu, wenn sich MKZ und Epidermis (s. Abb. 16 bzw. 11) bereits einem konstanten Wert angenähert haben. Dabei überrascht, daß MKZ/OFL und Str. granulosum dennoch Proportionalität aufweisen. Der Korrelationskoeffizient beträgt hier $r = 0,69$.

Obwohl bei der vorliegenden Hyperplasie vermehrt Zellen eine verdickte Granulosumschicht durchwandern - und zwar sehr wahrscheinlich gegenüber der Norm schneller durchwandern - könnte die Verweildauer im

Kompartiment für die Einzelzelle dennoch verlängert sein. Denn durch den längeren Weg steht der Einzelzelle bei einer dicken Schicht sicherlich mehr Zeit zur Verfügung als bei einer dünnen, wodurch eine Erhöhung der Zelldurchflußrate ermöglicht wird. Im günstigsten Falle bedeutet das, daß der bei der Hyperplasie schneller wandernden Zelle für das Passieren des verdickten Str. granulosum genauso viel Zeit verbleibt wie bei der normalen Epidermis (einschichtiges Granulosum, langsamer Differenzierungsablauf).

Die bei Versuchsabbruch bis auf ca. 4 Zellagen angewachsene Schicht des Str. granulosum (Abb. 9) würde bei der Richtigkeit dieser Annahme auf eine Verlangsamung und Normalisierung der Verhornungsvorgänge hindeuten. Wir hätten dann den Effekt einer "Kapazitätssteigerung" der Verhornung durch Vermehrung der Zellzahl im Granulosum, wobei die transit-time sich wieder zur Norm hin verlängern könnte.

Da der prozentuale Anstieg der einzelnen Schichten, abgesehen vom Str. corneum, bis zum 3. Tag gleichmäßig verläuft, scheinen in der Anfangsphase der Hyperplasieentwicklung die einzelnen Kompartments generell ihre verkürzten transit-Zeiten durch eine Schichtverdickung wieder zu verlängern, wie für das Str. granulosum dargestellt wurde.

Für das Str. granulosum und das Str. corneum ergab sich ein Korrelationskoeffizient von $r = 0,85$. Diese gute Korrelation zeigt, daß das Dickenverhalten des Str. granulosum mit dem des Str. corneum eng zusammenhängt. Dabei ist die Verdickung des Str. corneum vermutlich auf die gesteigerte Syntheseleistung des sich verdickenden Str. granulosum zurückzuführen. Offensichtlich jedoch ist für eine über den 14. Tag hinaus fortgesetzte HDC-Behandlung nicht mit einer weiterhin guten Korrelation der Parameter zu rechnen, da sich bei Versuchsende für das Str. granulosum bereits deutlich ein Einschwingen

auf einen konstanten Wert erkennen läßt.
Für das Str. corneum ist bei Versuchsende
ein ähnliches Verhalten nicht abzusehen.

Beim Menschen besteht die Hornschicht aus
etwa 18 Zellschichten (15). Demgegenüber
weist das Str. corneum beim Meerschwein-
chen (Kontrolltiere) mit durchschnittlich
9 nur halb so viele Zellagen auf (s. Ab-
schnitt III. B).

In der Literatur (18) vorliegende Befunde,
wonach die Ausbildung der Kolumnärstruk-
tur von der proliferativen Aktivität ab-
hängt, scheinen sich auch durch unsere Be-
obachtungen zu bestätigen: Mit zunehmen-
der MKZ/OFL weicht der "reißverschlußartig"
geordnete Zellschichtaufbau des Str. cor-
neum einer zunehmenden strukturellen Un-
ordnung (s. Abb. 8).

Messungen zur Bildungsrate von Hornzellen
an der Epidermis des Meerschweinchenohres
haben ergeben, daß normalerweise pro Tag

etwa 1 Hornzellige neugebildet wird (33). Das bedeutet, daß unter steady-state-Bedingungen auch täglich 1 Zellige abgestoßen wird. Eine Cornifikationsrate von $1/2$ bis 1 Zellige pro Tag wird auch an anderer Stelle bestätigt und als Voraussetzung des normalen 14-tägigen turnover im Str. corneum angesehen (15).

Es ist wahrscheinlich, daß auch im Str. corneum die Zellen bei der Hyperplasie eine transit-time-Verkürzung erfahren. Dafür sprechen die von ROTHBERG et al. (71) mittels C^{14} -Glycin autoradiographisch ermittelten Befunde an der menschlichen Epidermis. Diese Autoren fanden eine Verkürzung der turnover-time im Str. corneum von normal 13 - 14 Tagen auf 2 Tage bei Psoriasis; Messungen, die auch durch WEINSTEIN (80) und VAN SCOTT (75) bestätigt wurden.

Wir hatten bei unseren Untersuchungen der Hyperplasieentwicklung einen praktisch linearen Zuwachs von täglich $1/2$ Zellige

zu verzeichnen. Bei Versuchsende hatte sich die Hornschicht verdoppelt. Gehen wir davon aus, daß der Zellzufluß entsprechend der jeweiligen MKZ/OFL erhöht ist, bestehen zwei Möglichkeiten, die trotz verkürzter transit-time im Verhältnis verringerte Dickenzunahme der Hornschicht im Vergleich zu den anderen Schichten zu erklären. Entweder werden die der Peripherie zufließenden Zellen vorwiegend zum Aufbau der Akanthose verbraucht, oder es gehen in der Hornschicht, der einzigen Schicht der Epidermis, die zur Außenwelt hin ein offenes System darstellt, mehr Zellen als normal durch Desquamation verloren. Die makroskopisch sichtbar gesteigerte Schuppenbildung (s. Abschnitt III. A) scheint auf letzteres hinzuweisen.

Weitere Schlüsse aus dem Verhalten des Str. corneum können nicht gezogen werden, da nicht bekannt ist, wie sich die Hornbildungsrate verändert und ob sich die HDC-Einwirkung auf die Abschuppungsrate auswirkt.

3. Veränderungen der dermoepidermalen
Verbundzone:

Die dermoepidermale Verbundzone und der sich meßbar widerspiegelnde Umbauprozess sind Ausdruck der Strukturveränderung der Epidermis wie auch der angrenzenden Dermis.

Aktivierete Bindegewebszellen haben gegenüber dem Epithel eine erheblich verminderte Proliferationsrate. Die für eine Bindegewebsumformung erforderlichen Leistungen, wie Kapillarsprossung, Kollagenneubildung usw., können nur verzögert eintreten. Im Vollbild der Papillomatose (s. Abb. 3) schließlich besteht eine engere Verzahnung des epidermalen Retemusters mit den dermalen Papillen. Das bietet im Sinne einer größeren Austauschfläche günstigere Bedingungen für einen erhöhten dermal-epidermalen Stoffwechsel, wie er durch die Verdickung der Epidermis notwendig geworden ist. Anscheinend wird die morphologische Anordnung sowie das Volumen der Epidermis

und die davon abhängige Rate der Zellneubildung von der Dermis geprägt (3, 18, 69).

In unseren Untersuchungen wurde die erhebliche Stimulation der Epidermopoese (durch HDC), erkenntlich an der Zunahme der Zahl der ^3H -TdR-markierten Zellen, nur von einer sehr zögernden Veränderung der BML begleitet. So war z. B. die MKZ/OFL am 4. Tag bereits um das 7-fache angestiegen, für die BML jedoch ergaben unsere Messungen zu diesem Zeitpunkt erst eine 15 %ige Zunahme gegenüber der Norm (s. Abb. 4). Diese verzögerte Reaktion der Basalmembran findet auch in anderen Untersuchungen mit HDC Bestätigung (62, 69).

Morphologisch entspricht dieser Befund zunächst einer mäßiggradigen Dickenzunahme der Epidermis, die jedoch nicht unmittelbar von einer Papillomatoseentwicklung gefolgt ist. BRAUN-FALCO (5) spricht von einem engen Zusammenrücken der Basalzellen. Andere Autoren (14, 74) sehen in der Faltung

der Basalmembran die Auswirkungen eines gesteigerten Populationsdruckes, der sich aufgrund stärkerer peripherer interzellulärer Verfestigung vorwiegend in Richtung Verbundzone abzubauen sucht. Die Ursache für diese Papillomatose ist letztlich in der Verlängerung der Basalmembran als Ausdruck der zahlenmäßigen Vergrößerung der Basalzellpopulation (17, 75) zu sehen. Bei Behandlungsabbruch (14. Tag) wies die BML schließlich eine 60 %ige Zunahme gegenüber dem Ko-Wert auf.

Falls die Proportionalität zwischen BML und der Größe der Basalzellpopulation auch für den vorliegenden Fall der Hyperplasieentwicklung Gültigkeit hat, bedeutet das für die ersten drei Tage: Es liegt eine hohe Zahl markierter Zellen bei nahezu unveränderter Basalzellpopulation vor (die MKZ/OFL beträgt am 3. Tag schon das 5,2-fache des Ausgangswertes, die Basalmembran hat sich jedoch erst um etwa 10 % verlängert). Setzen wir voraus, daß keine Zellvolumenänderungen auftreten, so beruht die bis zum

4. Tag auf das 7-fache angestiegene MKZ/OFL zunächst auf einer starken Verkürzung des Zellzyklusablaufes (wie bereits weiter oben ausführlich behandelt).

Durch eine Verlängerung der Basalmembran könnte die Epidermis ihre regenerative Leistung ohne wesentliche Verkürzung des Zellzyklus stark erhöhen. Dadurch hätte sie die Möglichkeit, ihre funktionelle Zone (Hornschicht) dem Bedarf entsprechend zu verdicken, ohne fortgesetzt synthetische Höchstleistungen in Kauf nehmen zu müssen. In der Tat steigt die BML, die am 10. Tag etwa um 50 % zugenommen hat, von da an täglich noch um weitere 3 % an, obgleich die MKZ/OFL schon einen konstanten Wert anstrebt, der etwa beim 5,2-fachen des Ausgangswertes liegt; d. h. mit der Zunahme der BML wächst die Zahl teilungsfähiger Zellen ohne Zunahme der MKZ/OFL. Durch diese funktionelle Anpassung könnte der Zellzyklus wieder zur Norm hin verschoben werden, wodurch die Epidermis möglicherweise

wieder reagibel, d. h. erneut zur Proliferationssteigerung befähigt wird. Dieser Mechanismus der Erhöhung der reaktiven Kapazität der Epidermis durch die Verlängerung ihrer Basalmembran scheint durch Untersuchungen an der Sohlenepidermis des Meerschweinchens bestätigt (69). Bei 3,8-fach vergrößertem Epidermisvolumen sowie einer 3,8-fachen Vermehrung der Zahl markierter Zellen gegenüber der Ohrepi-
dermis wurde eine um etwa 66 % verlängerte BML gefunden. In diesem Hautareal besteht somit ein der Hyperplasie vergleichbarer Zustand bei wahrscheinlich normaler Zyklusdauer. Da Messungen hierfür noch ausstehen, bleibt letzteres allerdings hypothetisch.

Auch bei der Psoriasis vulgaris ist die extreme Papillomatose mit einer hohen Zahl markierter Zellen verbunden (22, 26, 74, 79). Die Werte in der Literatur schwanken zwischen einer 3- bis 7-fachen Erhöhung der MKZ/OFL (31, 75, 79).

Für BML und MKZ ergibt der Korrelationskoeffizient $r = 0,54$ keine Linearität, wenn man zugrunde legt, daß erst r -Werte über 0,60 für Linearität sprechen (s. Abschnitt III. C 8.).

Die in Abb. 19 dargestellten Beziehungen der Epidermisdicke und der BML werden dagegen durch den sehr guten Korrelationskoeffizienten von $r = 0,86$ erhärtet. Es besteht Linearität. Beide Parameter weisen eine entsprechende Verzögerung auf im Vergleich zu MKZ/OFL. Wenn die Epidermis dicker wird, verlängert sich auch die BML.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Gegenstand dieser Untersuchung war es, die Dynamik der Gewebsveränderung während einer 14-tägigen experimentellen Stimulation der Epidermopoese zu studieren. Zu diesem Zweck wurde eine benigne Hyperplasie mit dem Hyperplasiogen Hexadecan (HDC) an der Epidermis des Meerschweinchenohres induziert.

Als Parameter dienten:

- die Zahl ^3H -Thymidin-markierter Zellen
- die Dicke der lebenden Epidermis
- die Dicke des Rete Malpighi
- die Dicke des Str. granulosum
- die Dicke des Str. corneum
- die Länge der Basalmembran.

Ergebnis der täglich applizierten Hexadecan-Mengen war eine Epidermis-Hyperplasie. Die einzelnen Gewebsparameter zeigten folgendes Verhalten zueinander:

Für alle Parameter war ein Anstieg zu beobachten. Dabei fiel auf, daß die Maxima der Kurven zeitlich versetzt auftraten.

Als erste erreichte am 5. Tag die MKZ/OFL ihr Maximum mit dem 7,5-fachen des Kontrollwertes; zwei Tage später die Epidermisdicke, ebenso die Kurve des Rete Malpighi (7. Tag: 3,3-fache Verdickung gegenüber der Norm). Anschließendes Einschwingen auf konstante submaximale Werte ergab für die MKZ/OFL schließlich eine 5,2-fache (ab 10. Tag) und für die Epidermisdicke sowie das Rete Malpighi eine 2,9-fache Zunahme (ab 12. Tag) gegenüber der Norm.

Das Str. granulosum zeigte dagegen erst bei Versuchsende (14. Tag) Maximalwerte (3-fache Verdickung), und für das Str. corneum und BML/OFL war auch am 14. Tag das Maximum noch nicht abzusehen. Die Hornschicht hatte sich unter linearem Zuwachs von $1/2$ Zellage pro Tag bei Versuchsende gerade verdoppelt; für die Basalmembran ergab sich ein Zuwachs von 60 %.

Vergleichende Betrachtungen der vorliegenden Ergebnisse lassen folgende Schlußfolgerung über die Dynamik epidermaler Veränderungen zu:

1. In der Anfangsphase der Hyperplasieentwicklung scheint die Zunahme der markierten Zellen durch eine Verkürzung des Zellzyklus ermöglicht zu werden.
2. Maßgeblich für das Verhalten der Epidermisdicke, sowohl im Hinblick auf die Anfangsverzögerung als auch den darauffolgenden steilen Anstieg, kommen Zunahme an postmitotischen Tochterzellen, weiterhin auch Zellvolumenänderungen in Frage. Ein starkes Anwachsen der Zellpopulation wird offenbar erst dadurch möglich, daß die Tochterzellen - durch einen stark beschleunigten Generationszyklus synchronisiert - erneut wieder einen verkürzten Zyklus durchlaufen. Diese Reaktionsverzögerung zwischen MKZ und Epidermisdicke von 2 - 3 Tagen blieb über den ganzen Versuchszeitraum erhalten.

3. Durch Verdickung des Str. granulosum verfügt die Einzelzelle trotz hoher Durchflußgeschwindigkeit über eine relativ lange Zeit zur Differenzierung. Der prozentuale Anstieg der einzelnen Schichten, abgesehen vom Str. corneum, verläuft in der Anfangsphase der Hyperplasieentwicklung gleichmäßig.
4. Trotz offenbar verkürzter transit-time ist im Str. corneum eine im Vergleich zu den anderen Schichten verringerte aber konstante Dickenzunahme festzustellen. Da nicht bekannt ist, wie sich die Hornbildungsrate verändert und ob sich die HDC-Einwirkung auf die Abschuppungsrate auswirkt, können keine weiteren Schlüsse gezogen werden.
5. Die erhebliche Stimulation der Epidermopoese wird anfangs nur von einer sehr zögernden Veränderung der BML begleitet. Die Länge der Verbundzone zwischen Epidermis und Dermis hat nach 14 Behandlungstagen um 60 % zugenommen.

Die Zunahme ist Zeichen einer stark angewachsenen Zellpopulation teilungsaktiver Zellen. Es besteht eine gute Korrelation zwischen Epidermisdicke und Basalmembranlänge.

VI. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. ABERCROMBIE, M.: Estimation of nuclear population from microtome sections.
Anat. rec. 94, 239 - 247 (1946)
2. BACH, H., GOERTTLER, K.: Morphologische Untersuchungen zur hyperplasiogenen Wirkung des biologisch aktiven Phorbol ester A₁.
Virchows Arch. Abt. B Zellpath. 8, 196 - 205 (1971)
3. BILLINGHAM, R.E., SILVERS, W.K.: Dermo-epidermal Interactions and Epithelial Specificity.
In: Epithelial-Mesenchymal Interactions,
pp. 252 - 266
Hrsgb.: Williams and Wilins, Baltimore 1968
4. BORN, W.: Die epidermale DNS-Synthese während des Aufbaues einer experimentellen Akanthose beim Meerschweinchen.
Arch. klin. exp. Derm. 236, 53 - 60
5. BRAUN-FALCO, O.: Zum Problem der Psoriasis vulgaris.
Jap. J. Derm. 78, 558 - 588 (1968)
6. BRAUN-FALCO, O., CHRISTOPHERS, E.: Structural Aspects of Initial Psoriatic Lesions.
Arch. Derm. Forsch. 251, 95 - 110 (1974)

7. BRAUN-FALCO, O., CHRISTOPHERS, E.: Psoriasiforme Epidermis-Reaktion der Meerschweinchenhaut durch örtl. Vitamin A-Säure-Applikation.
Arch. klin. exp. Derm. 234, 70 - 86 (1969)
8. BRAUN-FALCO, O., CHRISTOPHERS, E., KURBAN, A.: Abnormes Verhalten der epidermalen Regeneration bei Patienten mit Psoriasis vulgaris.
Arch. klin. exp. Derm. 229, 276 - 284 (1967)
9. BROPHY, D., LOBITZ, W.C.: Injury and reinjury to the human epidermis.
II. Epidermal basal cell response
J. invest. Derm. 32, 495 - 502 (1959)
10. BULLOUGH, W.S.: The control of epidermal thickness.
Br. J. Derm. 87, 137 - 199 (1972)
11. BULLOUGH, W.S.: The Epidermal Chalone Mechanism.
First Symposium of the international Chalone Conference Brook Lodge Augusta, Mich. June 5-7 (1972)
National Cancer Inst. Monogr. No. 38
12. BULLOUGH, W.S., LAURENCE, E.B.: The Mitotic Activity of the Follicle.
In : The Biology of Hair Growth
Ed. : W. Montagna and R.A. Ellis
London, Academic Press p. 171 (1958)
13. BULLOUGH, W.S., LAURENCE, E.B.: Accelerating and Decelerating Actions of Adrenalin on Epidermal Mitotic Activity.
Nature 210, May 14, 715 - 717 (1966)

14. CHRISTOPHERS, E.: Die Wanderungskinetik postmitotischer Epidermiszellen.
Arch. klin. exp. Derm. 236, 161 - 172 (1970)
15. CHRISTOPHERS, E.: Pharmakologische Effekte an der Hornschicht.
Sonderdruck aus: Fortschritte der praktischen Dermatologie und Venerologie, Bd. VII
Springer Verlag Berlin-Heidelberg-New York 1973
16. CHRISTOPHERS, E.: Wachstumsdynamik von Epidermis und Papillarkörper nach lokaler Applikation von Vitamin A-Säure.
Biometrische Untersuchungen am Meerschweinchenohr.
Arch. klin. exp. Derm. 233, 99 - 106 (1968)
17. CHRISTOPHERS, E.: Die Regeneration der normalen und hyperplastischen Epidermis.
Habilitationsschrift aus der Dermatologischen Klinik und Poliklinik der Universität München (1969)
18. CHRISTOPHERS, E.: Epidermale Regeneration; Zellkinetische Aspekte.
Arch. Derm. Forsch. Bd. 244, S. 21 - 26 (1972)
29. Kongreßbericht
19. CHRISTOPHERS, E.: DNS-Synthese u. Hyperplasie der Epidermis nach Hornschichtabrieb u. Salbenapplikation.
Arch. klin. exp. Derm. 233, 277 - 286 (1968)

20. CHRISTOPHERS, E.: Die Epidermale Columnärstruktur.
Ztschrf.Zellforsch. 114, 441 - 450 (1971)
21. CHRISTOPHERS, E.: Eine neue Methode zur Darstellung
des str. corneum.
Arch. klin. exp. Derm. 237, 717 - 721 (1970)
22. CHRISTOPHERS, E.: Pathogenetische Aspekte der Psoriasis.
Med. klin. 67 (1972) Nr. 10
23. CHRISTOPHERS, E.: Correlation between Column Formation,
Thickness and Rate of New Cell Production
in the Guinea Pig Epidermis.
Virchows Arch. Abt. B Zellpath. 10,
286 - 292 (1972)
24. CHRISTOPHERS, E.: Aufbau und Funktion der Epidermis.
Sonderdruck in: Kosmetologie
(Zeitschrift für Kosmetik in Wissenschaft
und Praxis)
Heft 4 (1972) Verlag G. Braun, Karlsruhe
25. CHRISTOPHERS, E., BRAUN-FALCO, O.: Fluorescein-Isotio-
cyanate as a Stain for Keratinizing Epithelia.
Arch. Derm. Forsch. 241, 199 - 209 (1974)
26. CHRISTOPHERS, E., BRAUN-FALCO, O.: Psoriatic Hyperplasia:
Some Measurements.
Br. J. Derm. 83, Jubilee Issue (1970)

27. CHRISTOPHERS, E., BRAUN-FALCO, O.: Epidermale Regeneration am Meerschweinchenohr nach Hornschichtabrieb.
Arch. klin. exp. Derm. 231, 85 - 96 (1967)
28. CHRISTOPHERS, E., BRAUN-FALCO, O.: Mechanism of parakeratosis.
Br. J. Derm. 82, 268 - 275 (1970)
29. CHRISTOPHERS, E., KLIGMAN, A.M.: Visualization of the cell layers of stratum corneum.
J. invest. Derm. 42, 407 - 410 (1964)
30. CHRISTOPHERS, E., LAURENCE, E.B.: Regional Variation in Mouse Skin: Quantitation of Epidermal Compartment in Two Different Body Sites.
Virchow Arch. Abt. B Zellpath. 12,
212 - 222 (1973)
31. CHRISTOPHERS, E., PARZEFALL, R., BRAUN-FALCO, O.:
Initial Events in Psoriasis:
Quantitative Assessment.
Br. J. Derm. (1973) 89, 327
32. CHRISTOPHERS, E., PETZOLD, V.: Epidermal Cell Replacement:
Topographical Variations in Albino Guinea-Pig Skin.
Br. J. Derm. 81, 598 (1969)

33. CHRISTOPHERS, E., WOLFF, H.H., BRAUN-FALCO, O.:
Zelldifferenzierung im str. granulosum.
Elektronenmikroskopisch-autoradiographische
Einbaustudien mit ^3H -Histidin.
Arch. Derm. Forsch. 242, 179 - 190 (1972)
34. COWAN, M.A., MANN, P.R.: Histological and ultrastructural changes in Exp. Hyperplasia in the Guinea Pig.
Br. J. Derm. (1971) 84, 353
35. ELGJO, K.: Epidermal cell population kinetics after repeated applications of some hyperplasia-producing substance.
Europ. J. Cancer 4, 183 - 189 (1968)
36. ELGJO, K.: Growth kinetics of the mouse epidermis after application of 3,4-Benzpyrene, Croton oil or 1,2-Benzpyrene.
Acta path. microbiol. scandinav. 73,
183 - 190 (1968)
37. EPSTEIN, E.L., MAIBACH, H.T.: Cell renewal in human epidermis.
Arch. Derm. 92, 462 - 468 (1965)
38. EPSTEIN, E.L., SULLIVAN, D.I.: Epidermal mitotic activity in wounded human skin. 68 - 74
In: Wound Healing, W. Montagna (Hrsgb.)
Pergamon Press New York (1964)

39. FREI, J.V., STEPHENS, P.: The correlation of promotion of tumor growth and of inductions of hyperplasia in epidermal two-stage carcinogenesis.
Br. J. of Cancer 22, 83 - 92 (1968)
40. FROST, P., van SCOTT, E.J.: Ichthyosiform Dermatoses.
Arch. Derm. 94, 113 - 126 (1966)
41. FROST, P., WEINSTEIN, G.D., van SCOTT, E.J.:
The ichthyosiform dermatoses.
II. Autoradiograph. stud. of epidermal proliferation.
J. invest. Derm. 47, 561 - 567 (1966)
42. GAUDIN, P.: Acanthose par Chrysarobine, Vaseline et Frottement.
Dermatologica (Basel) 97, 208 - 215 (1948)
43. GIACOMETTI, L., MONTAGNA, W.: Langerhans - cells - uptake of tritiated thymidine.
Science 157, 439 - 440 (1967)
44. GREULICH, C.: Aspects of Cell Individuality in The Renewal of Stratified Squamous Epithelia.
In: The Epidermis, 117 - 132
W. Montagna and W.C. Lobitz, (Hrsgb.)
Academic Press, New York - London (1964)
45. GROSS, J.: Kinetics of Compensatory Growth.
Quart. Rev. Biol. 40, 126 - 146 (1965)

46. HEITE, H.J., MATHIESSEN, W.: Über die experimentelle Akanthose nach örtlicher Anwendung von Nikotinsäure-Ester.
Dermatologica 135, 433 - 442 (1967)
47. HEITE, H.J., SCHUMANN, J.W.: Untersuchungen am Akantho-
setest über die Wirksamkeit kochsalzhaltiger Salben.
Arch. klin. exp. Derm. 228, 266 - 275 (1967)
48. HEITE, H.J., ULRICH, C.: Epidermisdicke, Zellzahl und
Mitoserate in der Meerschweinchenhaut unter
dem Einfluß verschiedener Röntgenstrahlen.
Arch. klin. exp. Derm. 210, 625 - 640 (1960)
49. HELL, E.A., CRUICKSHANK, C.N.N.: The effect of injury
upon the uptake of ³H-Thymidine by Guinea
pig epidermis.
Exp. Cell Res. 31, 128 - 139 (1963)
50. HENNINGS, H., ELGJO, K.: Epidermal Regeneration After
Cellophane Tape Stripping Of Hairless Mouse
Skin.
Cell Tissue Kinet. 3, 243 - 252 (1970)
51. HOEKSTRA, W.G., PHILLIPS, P.M.: Effects of Typically
Applied Mineral Oil Fraction on the Skin
of Guinea Pig.
J. invest. Derm. (1968) 40, 79

52. HOWARD, A., PELC, S.R.: Nuclear incorporation of P^{32}
as demonstrated by autoradiographs.
Exp. Cell. Res. 2, 178 - 187 (1951)
53. HUNTER, R., PINKUS, H., STEELE, C.H.: Examination of
the epidermis by the strip method.
J. invest. Derm. 27, 31 - 39 (1956)
54. KIRK, D.L., HOEKSTRA, W.: Hexadecane induced Hyper-
keratinization of Guinea pig skin.
I. Changes in epidermal weight and water-
binding.
J. invest. Derm. 43, 93 - 98 (1964)
55. KLIGMAN, A.M.: The Biology of the Stratum Corneum.
In: The Epidermis, 387 - 433
W. Montagna and W.C. Lobitz (Hrsgb.)
Academic Press, London - New York 1964
56. KLIGMAN, A.M., CHRISTOPHERS, E.: Preparation of isolated
sheets of human stratum corneum.
Arch. Derm. 88, 701 - 705 (1963)
57. LAJTHA, L.G., OLIVER, R., ELLIS, F.: Incorporation of
 ^{32}P and adenine ^{14}C into DNA by human bone
marrow cells in vitro.
Br. J. Cancer VIII, 367 (1954)

58. MACKENZIE, Jan.C., Ph. D.B.D.S., F.D.S.R.C.S.:
The Effects of frictional Stimulation on
Mouse Ear Epidermis.
I. Cell Proliferation
J. invest. Derm. 62, 80 - 85 (1974)
59. MACKENZIE, J.C., MILES, A.E.W.: The effect of chronic
frictional stimulation of Hamster cheek pouch
epithelium.
Arch. oral. Biol. Vol. 18 pp., 1141 - 1349
(1973)
60. MARKS, R.: Comment: The Role of Chalones in Epidermal
Homeostasis.
Br. J. Derm. 86, 543 (1972)
61. MESSIER, B., LEBLOND, C.P.: Cell proliferation and Migra-
tion as revealed by radioautography after
injection of Thymidine-³H into small rats
and mice.
Amer. J. Anat. 106, 247 - 285 (1960)
62. MÜLLER, G.: Die benigne Hyperplasie der Meerschwein-
chenepidermis nach lokaler Hexadecan-Appli-
kation.
Autoradiographisch-Zytokinetische Unter-
suchungen.
Inaugural-Dissertation an der Dermatologi-
schen Klinik und Poliklinik der Universität
München (1971)

63. PELC, S.R.: Autoradiograph. technique.
Nature 160, 749 - 750 (1947)
64. PENNEYS, N.S., FULTON, J.E.(jr.), WEINSTEIN, G.D.,
FROST, P.: Location of Proliferating
Cells in Human Epidermis.
Arch. Derm. 101, 323 - 327 (1970)
65. PEREIRA, MARQUES, J.P., LEBLOND, C.P.: Mitosis and
Differentiation in the stratified Squamous
Epithelium of the Rat Esophagus.
Am. J. Anat. 117, 73 - 89 (1965)
66. PINKUS, H.: Examination of the epidermis by the strip
method.
II. Biometric data on regeneration of the
human epidermis.
J. invest. Derm. 19, 431 - 446 (1952)
67. PINKUS, H., HUNTER, R.: The Direction of the Mitotic
Axis in Human Epidermis.
Arch. Derm. 94, 351 - 359 (1966)
68. PLEWIG, G., WOLFF, H.H., BRAUN-FALCO, O.:
Topical treatment of normal and pathological
human skin with Vitamin A acid (Tretinoin).
Clinical, histological and electronmicroscopical studies.
Arch. klin. exp. Derm. 239, 390 - 413 (1971)

69. POHL, P.: Quantitative Analyse der Epidermisstruktur:
Abhängigkeit von Körperregion und Zellneubildungsrate.
Inaugural-Dissertation Med. Fakultät Universität München (1972)
70. ROSSMILLER, J.D., HOEKSTRA, W.G.: Hexadecane-Induced
Hyperkeratinization of Guinea-Pig Skin.
III. Cutaneous Penetration of Topically
Applied Hexadecane - 1 - C - 14.
J. invest. Derm. 47, 39 - 43 (1966)
71. ROTHBERG, S., CROUNSE, R.G., LEE, J.L.:
Glycin - C¹⁴ - incorporation into the
protein of normal str. corneum and the abnormal str. corneum of psoriasis.
J. invest. Derm. 37, 497 - 504 (1961)
72. SCHAAF, F.: Die Epidermisverbreiterung im Tierexperiment.
Derm. Wschr. 139, 297 - 305 (1956)
73. SCHELLANDER, F.: Reaktion von Epidermis und subepidermalem Bindegewebe auf Hornschichtabrisse.
Arch. klin. exp. Derm. 234, 158 - 167 (1969)
74. SCHMID, MEISEL: Proliferationskinetische Untersuchungen
über die Dysregulation der Epidermopoese
bei Psoriasis vulgaris.
Therapiewoche, Heft 19/1973

75. SCOTT van, E.J., EKEL, T.M.: Kinetics of hyperplasia in psoriasis.
Arch. Derm. 88, 373 - 381 (1963)
76. STEIGLEDER, G.K., GANS, O.: Pathologische Reaktionen der Epidermis.
In: Handbuch der Haut- und Geschlechtskrankheiten, Ergänzungswerk 1/2, 178 - 298
Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg-New York 1964
77. WEINSTEIN, G.D.: Autoradiographic Studies of Turnover Time and Protein Synthesis in Pig Epidermis.
J. invest. Derm. 44, 413 - 419 (1965)
78. WEINSTEIN, G.D., FROST, P.: Cell proliferation Kinetics in Benign and Malignant Skin Disease in Humans.
National Cancer Institute Monograph. Nr. 30
79. WEINSTEIN, G.D., FROST, P.: Abnormal cell proliferation in psoriasis.
J. invest.Derm. 50, 254 - 259 (1968)
80. WEINSTEIN, G.D., van SCOTT, E.J.: Autoradiographic analysis of turn-over times of normal and psoriatic epidermis.
J. invest.Derm. 45, 257 - 262 (1965)

81. WEIRICH, E.G.: Über die Quantifizierung epidermoplastischer Reaktionen mit Hilfe der seriellen Projektions-Histoplanimetrie.

Arch. klin. exp. Derm. 239, 79 - 95 (1970)

82. YAMAGUCHI, Takeo, TABACKNICK, J.: Cell Kinetics of Epidermal Repopulation and Persistent Hyperplasia in locally BETA-Irradiated Guinea Pig Skin.

Radiation Research 50, 158 - 180 (1972)

Herrn Prof. Dr. med. Enno Christophers danke ich
für die Überlassung des Themas und sein großes
Interesse am Fortgang dieser Arbeit.

Herrn Prof. Dr. med. O. Braun-Falco danke ich,
daß er es mir ermöglichte, die Arbeiten an seiner
Klinik durchzuführen.

Fräulein B. Klare danke ich für ihre freundliche
Hilfe in technischen Fragen.

Mein Dank gilt auch Fräulein B. Niklewitz
für ihren selbstlosen Einsatz bei den Schreib-
arbeiten und die hierfür aufgewendete Zeit.

LEBENS LAUF

Ich, Michael D i p p e l h o f e r , wurde am
22. November 1946 in Türkheim b. Mindelheim (Bay.)
geboren.

Meine Eltern sind der heute im Ruhestand befindliche
Brigadegeneral im Bundesgrenzschutz Dr. jur. Otto
Dippelhofer und dessen Ehefrau Gertraud Dippelhofer,
geb. Roßbacher.

1947 - 1952	Lindau/Bodensee
1952 - 1957	Volksschule Bonn-Lengsdorf
1957 - 1959	Gymnasium Katharineum in Lübeck
1959 - 1967	Altes Realgymnasium und Nymphen- burger Gymnasium in München

Nach Abschluß der Reifeprüfung im Juli 1967 leistete
ich freiwillig meinen Wehrdienst als Offiziersanwär-
ter beim Bundesgrenzschutz ab.

Zum Wintersemester 1969 erhielt ich meine Zulassung
zum Studium der Zahnheilkunde an der Ludwig-Maximi-
lians-Universität in München

- zahnärztl. naturwissenschaftliche
Vorprüfung im Oktober 1970
- zahnärztl. Vorprüfung im April 1972

und nach Abschluß des Staatsexamens im Februar 1975
meine Bestallung als Zahnarzt.

Seit 1. Januar 1976 bin ich als Assistent in einer
Zahnarztpraxis in Landsberg/Lech tätig.

München, 3. Mai 1976

